

UNIVERSIDAD NACIONAL JORGE BASADRE GROHMANN

Facultad de Ciencias de la Salud

Escuela Profesional de Odontología

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 DE PACIENTES CON DIAGNÓSTICO DE ESTOMATITIS SUBPRÓTESIS QUE ACUDEN AL CENTRO DE SALUD CIUDAD NUEVA DE TACNA EN EL AÑO 2020

TESIS

Presentada por:

Bach. José André Vidal Arias

Para optar el Título Profesional

CIRUJANO DENTISTA

TACNA - PERÚ

2021

**UNIVERSIDAD NACIONAL JORGE BASADRE GROHMANN**

Facultad de Ciencias de la Salud

**Escuela Profesional de Odontología**

**EFFECTO 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 DE PACIENTES CON DIAGNÓSTICO DE ESTOMATITIS SUBPRÓTESIS QUE ACUDEN AL CENTRO DE SALUD CIUDAD NUEVA DE TACNA EN EL AÑO 2020**

**TESIS**

Presentada por:

**Bach. JOSÉ ANDRÉ VIDAL ARIAS**

Para optar el Título Profesional de:

**CIRUJANO DENTISTA**

Aprobada por .....*unanimidad*....., ante el siguiente jurado.

  
\_\_\_\_\_  
**Dr. Luis Alberto Alarico Cohaila**

**Presidente**

  
\_\_\_\_\_  
**Mg. Jaime Barcena Taco**

**Miembro**

  
\_\_\_\_\_  
**Mtro. Noelia Yésica Martínez Cántaro**

**Miembro**

  
\_\_\_\_\_  
**C.D. Carlos Enrique Valdivia Silva**

**Asesor**

## DEDICATORIA

A mis amados padres Gualberto y Dimpina, pues ellos fueron el principal cimiento para la construcción de mi vida profesional, sentaron en mí las bases de responsabilidad y deseos de superación; en ellos tengo el espejo en el cual me quiero reflejar pues sus virtudes infinitas y su gran corazón me llevan a admirarlos cada día más.

A mi querida hermana Yeshira, pues con sus palabras de aliento me motivó siempre a seguir adelante a pesar de las adversidades y así cumplir con cada uno de mis ideales.

A mis grandes amigos C.D. Henry Elguera Vargas y C.D. Paul Pamo Chambilla, pues siempre me brindaron una amistad sincera en todo momento, me dieron su apoyo cuando más los necesité y me extendieron su mano en momentos difíciles.

A mi querida enamorada Diana, pues siempre conté con su apoyo, aliento y cariño incondicional para poder culminar de forma exitosa mi etapa universitaria.

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco en primer lugar a Dios por guiar mis pasos en todo momento y darme fortaleza para no rendirme ante las adversidades durante toda mi vida hasta el día de hoy.

A mis docentes, en especial a mi asesor, el C.D. Carlos Enrique Valdivia Silva, por haberme brindado sus conocimientos y por apoyarme durante el desarrollo de esta tesis.

Al Blgo. Mblgo. Edwin Denis Obando Velarde, por su tiempo, paciencia, dedicación y valiosa asesoría brindada para hacer posible el desarrollo de la presente tesis.

A todos mis amigos, por todos los momentos compartidos durante nuestra etapa universitaria y su apoyo incondicional durante todo este tiempo.

## CONTENIDO

	<b>Pág.</b>
<b>DEDICATORIA</b> .....	iii
<b>AGRADECIMIENTO</b> .....	iv
<b>ÍNDICE DE TABLAS</b> .....	ix
<b>ÍNDICE DE GRÁFICOS</b> .....	xi
<b>RESUMEN</b> .....	xii
<b>ABSTRACT</b> .....	xiv
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	1
<b>CAPÍTULO I PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b> .....	4
1.1. FUNDAMENTOS Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA .....	4
1.1.1. Descripción del problema .....	4
1.1.2. Formulación del problema .....	5
1.2. OBJETIVOS .....	6
1.2.1. Objetivo general.....	6
1.2.2. Objetivos específicos .....	6
1.3. JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA DE LA INVESTIGACIÓN .....	8
1.4. FORMULACIÓN DE LA HIPÓTESIS.....	10

1.4.1.	Hipótesis nula .....	10
1.4.2.	Hipótesis alterna .....	10
1.5.	OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES.....	11
<b>CAPÍTULO II MARCO TEÓRICO .....</b>		<b>12</b>
2.1.	ANTECEDENTES .....	12
2.1.1.	Antecedentes internacionales.....	12
2.1.2.	Antecedentes nacionales.....	12
2.1.3.	Antecedentes locales.....	19
2.2.	BASE TEÓRICO – CIENTÍFICO .....	20
2.2.1.	<b><i>Caesalpinia spinosa</i></b> (TARA) .....	20
2.2.2.	<b><i>Candida albicans</i></b> .....	28
2.2.3.	Estomatitis subprótesis.....	34
2.3.	DEFINICIÓN DE TÉRMINOS.....	38
<b>CAPÍTULO III MARCO METODOLÓGICO .....</b>		<b>40</b>
3.1.	TIPO, NIVEL Y DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN .....	40
3.2.	ÁMBITO DE ESTUDIO.....	40
3.2.1.	Ámbito geográfico.....	40
3.2.2.	Ámbito temporal.....	40
3.2.3.	Ámbito físico .....	41
3.3.	POBLACIÓN Y MUESTRA.....	41

3.3.1.	Población de estudio .....	41
3.3.2.	Muestra.....	41
3.4.	TÉCNICA E INSTRUMENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS.....	42
3.4.1.	Técnica .....	42
3.4.2.	Instrumento.....	43
3.5.	PROCEDIMIENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS .....	46
3.5.1.	Recolección de <b>Caesalpinia spinosa</b> (TARA) .....	46
3.5.2.	Preparación de la muestra recolectada .....	46
3.5.3.	Obtención del extracto etanólico de <b>Caesalpinia spinosa</b> (TARA).....	47
3.5.4.	Recolección de las muestras microbiológicas .....	49
3.5.5.	Procesamiento de las muestras microbiológicas recolectadas .....	51
3.5.6.	Identificación de <b>Candida albicans</b> a través de una tinción simple con azul de metileno.....	58
3.5.7.	Identificación de <b>Candida albicans</b> a través de la prueba de tubo germinativo .....	59
3.5.8.	Preparación de la cepa pura de <b>Candida albicans</b> .....	61
3.5.9.	Preparación de los discos de sensibilidad antifúngica .....	64
3.5.10.	Preparación de las concentraciones del extracto etanólico de <b>Caesalpinia spinosa</b> .....	65

3.5.11. Prueba de sensibilidad antifúngica por método de KIRBY – BAUER .....	66
3.5.12. Determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI).....	71
3.5.13. Determinación de la concentración mínima fungicida (CMF).....	77
3.6. PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE DATOS .....	79
<b>CAPÍTULO IV RESULTADOS</b> .....	80
<b>DISCUSIÓN</b> .....	107
<b>CONCLUSIONES</b> .....	111
<b>RECOMENDACIONES</b> .....	113
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	115
<b>ANEXOS</b> .....	123

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>TABLA Nº 1</b>	PROMEDIO DE HALOS DE INHIBICIÓN EN MILÍMETROS (mm) DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE <b>Caesalpinia spinosa</b> (TARA) A UNA CONCENTRACIÓN DE 12,5 mg/ml.....	80
<b>TABLA Nº 2</b>	PROMEDIO DE HALOS DE INHIBICIÓN EN MILÍMETROS (mm) DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE <b>Caesalpinia spinosa</b> (TARA) A UNA CONCENTRACIÓN DE 25 mg/ml.....	83
<b>TABLA Nº 3</b>	PROMEDIO DE HALOS DE INHIBICIÓN EN MILÍMETROS (mm) DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE <b>Caesalpinia spinosa</b> (TARA) A UNA CONCENTRACIÓN DE 50 mg/ml.....	86
<b>TABLA Nº 4</b>	PROMEDIO DE HALOS DE INHIBICIÓN EN MILÍMETROS (mm) DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE <b>Caesalpinia spinosa</b> (TARA) A UNA CONCENTRACIÓN DE 100 mg/ml .....	89
<b>TABLA Nº 5</b>	GRADO DE SENSIBILIDAD DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE <b>Caesalpinia spinosa</b> (TARA) SEGÚN ESCALA DE SENSIBILIDAD DE DURAFFOURD Y LAPRAZ.....	92

<b>TABLA Nº 6</b>	ANÁLISIS DE DISTRIBUCIÓN DE DATOS (PRUEBA DE NORMALIDAD DE KOLMOGOROV-SMIRNOV Y SHAPIRO-WILK).....	93
<b>TABLA Nº 7</b>	ANÁLISIS DE IGUALDAD DE VARIANZAS (PRUEBA DE LEVENE).....	95
<b>TABLA Nº 8</b>	ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LOS FACTORES CONCENTRACIÓN Y TRATAMIENTO (PRUEBA DE ANOVA DE DOS FACTORES).....	97
<b>TABLA Nº 9</b>	PRUEBA DE COMPARACIONES MÚLTIPLES DE TUCKEY CON UNA CONFIANZA DEL 95% PARA EL FACTOR A: CONCENTRACIÓN.....	101
<b>TABLA Nº 10</b>	PRUEBA DE COMPARACIONES MÚLTIPLES DE TUCKEY CON UNA CONFIANZA DEL 95% PARA EL FACTOR B: TRATAMIENTO.....	102
<b>TABLA Nº 11</b>	PRUEBA DE COMPARACIONES MÚLTIPLES DE TUCKEY CON UNA CONFIANZA DEL 95% PARA EL FACTOR A: CONCENTRACIÓN Y FACTOR B: TRATAMIENTO.....	103

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

<b>GRÁFICO Nº 1</b>	PROMEDIO DE HALOS DE INHIBICIÓN EN MILÍMETROS (mm) DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE <i>Caesalpinia spinosa</i> (TARA) A UNA CONCENTRACIÓN DE 12,5 mg/ml.....	81
<b>GRÁFICO Nº 2</b>	PROMEDIO DE HALOS DE INHIBICIÓN EN MILÍMETROS (mm) DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE <i>Caesalpinia spinosa</i> (TARA) A UNA CONCENTRACIÓN DE 25 mg/ml.....	84
<b>GRÁFICO Nº 3</b>	PROMEDIO DE HALOS DE INHIBICIÓN EN MILÍMETROS (mm) DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE <i>Caesalpinia spinosa</i> (TARA) A UNA CONCENTRACIÓN DE 50 mg/ml.....	87
<b>GRÁFICO Nº 4</b>	PROMEDIO DE HALOS DE INHIBICIÓN EN MILÍMETROS (mm) DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE <i>Caesalpinia spinosa</i> (TARA) A UNA CONCENTRACIÓN DE 100 mg/ml.....	90
<b>GRÁFICO Nº 5</b>	GRÁFICO DEL MODELO MATEMÁTICO CUBICO ESPECIAL.....	105

## RESUMEN

**Objetivo:** Evaluar el efecto antifúngico in vitro del extracto etanólico obtenido de vainas de *Caesalpinia spinosa* (Tara) comparado con Nistatina, sobre un cultivo de *Candida albicans* obtenido de pacientes con diagnóstico de Estomatitis Subprótesis que acuden al Centro de Salud Ciudad Nueva de Tacna en el año 2020. **Metodología:** El presente trabajo de investigación es de tipo analítico, experimental, in vitro, controlado, aleatorizado, longitudinal y prospectivo; catalogado dentro de esta clasificación como un ensayo farmacológico en etapa preclínica; la muestra del presente estudio es de tipo censal y estuvo constituida por todas las placas de Petri inoculadas con cepas de *Candida albicans* obtenidas de pacientes con diagnóstico de Estomatitis Subprótesis que acuden al Centro de Salud Ciudad Nueva de Tacna, sobre las cuales fue puesto a prueba un extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* a concentraciones de 12,5 mg/ml; 25 mg/ml; 50 mg/ml y 100 mg/ml a través del método de Kirby – Bauer; luego de ello se realizaron las pruebas respectivas para la obtención de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y la Concentración Mínima Fungicida (CMF). **Resultados:** Las medias de los halos inhibitorios obtenidos por el extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* (Tara) fueron de 20,17 mm; 22,16 mm; 26,14 mm y 27,71 mm para las concentraciones

de 12,5 mg/ml; 25 mg/ml; 50 mg/ml y 100 mg/ml respectivamente; mientras que la media de los halos inhibitorios formados por Nistatina fue de 14,69 mm. La CMI fue de 9 mg/ml y la CMF fue de 9,8 mg/ml. **Conclusión:** Existe diferencia significativa entre el efecto antifúngico in vitro del extracto etanólico obtenido de vainas de *Caesalpinia spinosa* (Tara) comparado con Nistatina, sobre un cultivo de *Candida albicans* obtenido de pacientes con diagnóstico de Estomatitis Subprótesis que acuden al Centro de Salud Ciudad Nueva de Tacna en el año 2020.

**Palabras clave:** Efecto antifúngico, *Caesalpinia spinosa*, Extracto etanólico, *Candida albicans*, Estomatitis Subprótesis, Concentración Mínima Inhibitoria, Concentración Mínima Fungicida.

## ABSTRACT

**Objective:** To evaluate the antifungal effect of the ethanolic extract obtained from *Caesalpinia spinosa* (Tara) pods compared to Nystatin, on a *Candida albicans* culture obtained from patients diagnosed with Denture Stomatitis who were treated at Ciudad Nueva Clinic in Tacna in 2020.

**Methodology:** This research work is analytical, experimental, in vitro, controlled, randomized, longitudinal and prospective; cataloged within this classification as a pharmacological trial in preclinical stage; the sample of the present study is census type and consisted of all the Petri dishes inoculated with strains of *Candida albicans* obtained from patients diagnosed with Denture Stomatitis who were treated at Ciudad Nueva Clinic in Tacna, on which an ethanolic extract of *Caesalpinia spinosa* was tested at concentrations of 12,5 mg/ml; 25 mg/ml; 50 mg/ml and 100 mg/ml through the Kirby-Bauer method; after that, the respective tests were carried out to obtain the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and the Minimum Fungicidal Concentration (MFC). **Results:** The means of the inhibitory halos obtained by the ethanolic extract of *Caesalpinia spinosa* (Tara) were 20,17 mm; 22,16 mm; 26,14 mm and 27,71 mm for the concentrations of 12,5 mg/ml; 25 mg/ml; 50 mg/ml and 100 mg/ml respectively; while the mean of the inhibitory halos formed by Nystatin was 14,69 mm. The MIC was 9

mg/ml and the MFC was 9,8 mg/ml. **Conclusion:** There is a significant difference between the in vitro antifungal effect of the ethanolic extract obtained from *Caesalpinia spinosa* (Tara) pods compared to Nystatin, on a *Candida albicans* culture obtained from patients diagnosed with Denture Stomatitis who were treated at Ciudad Nueva Clinic in Tacna in 2020.

**Keywords:** Antifungal effect, *Caesalpinia spinosa*, Ethanolic extract, *Candida albicans*, Denture Stomatitis, Minimum Inhibitory Concentration, Minimum Fungicidal Concentration.

## INTRODUCCIÓN

La Organización Mundial de la Salud (OMS) anunció que la resistencia a los antimicrobianos es una de las diez principales amenazas para la salud pública que enfrentan los seres humanos, el abuso y el uso excesivo de antimicrobianos son los principales factores que determinan la aparición de patógenos resistentes. La prevalencia de las infecciones por hongos resistentes a los medicamentos está aumentando y las condiciones de tratamiento se están deteriorando. Muchas infecciones fúngicas actuales traen problemas de tratamiento, como la toxicidad, especialmente en pacientes con otras infecciones potenciales (como el VIH). Es por eso que la OMS hace un llamado a los países para que redoblen los esfuerzos para controlar la resistencia a los fármacos; vigilando su uso racional y promoviendo la investigación y el desarrollo de nuevos agentes antimicrobianos (1,2).

Desde la antigüedad, la gente ha creído que las plantas tienen potencial terapéutico para el tratamiento de diversas enfermedades infecciosas (3).

La medicina tradicional basada en plantas medicinales es un campo interesante y se ha convertido en un método de tratamiento alternativo para patologías específicas debido a su bajo costo y fácil acceso a poblaciones de escasos recursos económicos (4).

En el Perú, hay muchos tipos de plantas que pueden tener valor medicinal, basado en conocimientos empíricos sobre su uso terapéutico, como la Tara, la Uña de gato, la Muña, el Boldo, el Cedro, la Manzanilla, el Matico, etc. Dicho conocimiento se tiene que verificar y debe ser probado a través de experimentos, lo que requiere un proceso científico (5).

La Tara es originaria de los Andes y se encuentra distribuida de forma natural en casi toda la costa del Perú, más específicamente desde Piura hasta Tacna y en algunos departamentos de la sierra. Su uso medicinal es principalmente debido a la propiedad astringente de sus vainas, la cual le permite producir una acción cicatrizante, antiinflamatoria y antihemorrágica (6).

Ya que en diversas investigaciones en todo el mundo se ha determinado que muchas plantas, incluyendo a ***Caesalpinia spinosa*** (Tara), tienen algunos efectos como antibacterianos, antifúngicos, antiparasitarios, antivirales o incluso insecticidas(4), es que se desarrolla el presente trabajo de investigación a fin de evaluar el efecto antifúngico in vitro del extracto etanólico obtenido de vainas de ***Caesalpinia spinosa*** (Tara) comparado con Nistatina, sobre un cultivo de ***Candida albicans*** obtenido de pacientes con diagnóstico de Estomatitis Subprótesis que acuden al Centro de Salud Ciudad Nueva de Tacna en el año 2020; que a su vez, servirá de base para futuras investigaciones.

El presente trabajo de investigación consta de los siguientes capítulos:

En el capítulo I, que está referido al planteamiento del problema, presentamos los fundamentos y formulación del problema, los objetivos generales y específicos, la justificación e importancia de la investigación, la formulación de la hipótesis y la operacionalización de las variables.

En el capítulo II, que está referido al marco teórico, presentamos los antecedentes en sus ámbitos internacional, nacional y local, las bases teórico – científicas y la definición de términos.

En el capítulo III, que está referido al marco metodológico, presentamos el tipo de la investigación, el ámbito geográfico, temporal y físico en el que se ejecutó la investigación, la población de estudio y la muestra, la técnica e instrumento de recolección de datos, los procedimientos de recolección de datos, el procesamiento y análisis de datos.

En el capítulo IV, presentamos los resultados obtenidos en la presente investigación, las tablas y gráficos con sus respectivas interpretaciones y la discusión de dichos resultados confrontándolos con los resultados obtenidos en los trabajos de investigación tomados como antecedentes.

Finalmente, presentamos las conclusiones, recomendaciones, referencias bibliográficas y anexos.

## **CAPÍTULO I**

### **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

#### **1.1. FUNDAMENTOS Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA**

##### **1.1.1. Descripción del problema**

La pérdida de piezas dentales no es parte del proceso normal de envejecimiento del ser humano, sin embargo, durante la última fase de mi formación profesional pude evidenciar una alta frecuencia de edentulismo, tanto parcial como total, en los pacientes atendidos en el Centro de Salud Ciudad Nueva de Tacna, quienes en su mayoría buscan reemplazar las piezas dentales perdidas mediante el uso de prótesis parciales o totales.

La instalación de cualquiera de estos tipos de prótesis dental producirá cambios en el entorno bucal, obligándolo a responder a la nueva situación, en función de las características de la prótesis, el entorno y la capacidad de reacción de cada organismo; por tanto, en un paciente podría causar cambios adaptativos, mientras que en otros pacientes podría causar cambios no fisiológicos, como la Estomatitis Subprótesis, que

es la afección más común en la mucosa oral asociada con el uso de prótesis dentales con soporte mucoso(7).

Durante la última fase de mi formación profesional, desarrollada en el CLAS Centro de Salud Ciudad Nueva de Tacna, pude evidenciar también una alta frecuencia de Estomatitis Subprótesis en los pacientes portadores de prótesis removibles que acudieron a consulta, lo cual llamó bastante mi atención y me llevó a investigar sobre nuevas formas de tratamiento de esta afección, relacionados con el uso de plantas medicinales.

#### **1.1.2. Formulación del problema**

¿Existe diferencia entre el efecto antifúngico in vitro del extracto etanólico obtenido de vainas de ***Caesalpinia spinosa*** (Tara) comparado con Nistatina, sobre un cultivo de ***Candida albicans*** obtenido de pacientes con diagnóstico de Estomatitis Subprótesis que acuden al Centro de Salud Ciudad Nueva de Tacna en el año 2020?

## 1.2. OBJETIVOS

### 1.2.1. Objetivo general

- Evaluar el efecto antifúngico in vitro del extracto etanólico obtenido de vainas de ***Caesalpinia spinosa*** (Tara) comparado con Nistatina, sobre un cultivo de ***Candida albicans*** obtenido de pacientes con diagnóstico de Estomatitis Subprótesis que acuden al Centro de Salud Ciudad Nueva de Tacna en el año 2020.

### 1.2.2. Objetivos específicos

- Establecer las diferencias del efecto antifúngico in vitro del extracto etanólico obtenido de vainas de ***Caesalpinia spinosa*** (Tara), en sus distintas concentraciones, sobre un cultivo de ***Candida albicans*** obtenido de pacientes con diagnóstico de Estomatitis Subprótesis que acuden al Centro de Salud Ciudad Nueva de Tacna en el año 2020.
- Establecer las diferencias del efecto antifúngico in vitro del extracto etanólico obtenido de vainas de ***Caesalpinia spinosa*** (Tara) comparado con Nistatina, sobre un cultivo de ***Candida albicans*** obtenido de pacientes con diagnóstico de

Estomatitis Subprótesis que acuden al Centro de Salud Ciudad Nueva de Tacna en el año 2020.

- Determinar la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del extracto etanólico obtenido de vainas de **Caesalpinia spinosa** (Tara) sobre un cultivo de **Candida albicans** obtenido de pacientes con diagnóstico de Estomatitis Subprótesis que acuden al Centro de Salud Ciudad Nueva de Tacna en el año 2020.
- Determinar la Concentración Mínima Fungicida (CMF) del extracto etanólico obtenido de vainas de **Caesalpinia spinosa** (Tara) sobre un cultivo de **Candida albicans** obtenido de pacientes con diagnóstico de Estomatitis Subprótesis que acuden al Centro de Salud Ciudad Nueva de Tacna en el año 2020.

### 1.3. JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA DE LA INVESTIGACIÓN

Después de una búsqueda virtual a través de la web del Observatorio Peruano de Productos Farmacéuticos de la DIGEMID, se pudo evidenciar que la Nistatina, un antifúngico relacionado con el control de la Estomatitis Subprótesis, no se encuentra disponible en ningún establecimiento público en la región Tacna; por lo que el presente estudio:

- Es **conveniente**, puesto que la presente investigación podría ser una posible alternativa a dicha carencia.
- Es **parcialmente original**, puesto que si bien existen estudios relacionados al efecto antifúngico in vitro de ***Caesalpinia spinosa*** (Tara) en el campo odontológico, estos son escasos.
- Tiene **relevancia científica**, puesto que la presente investigación aporta conocimientos científicos acerca del efecto antifúngico de ***Caesalpinia spinosa*** (Tara) sobre ***Candida albicans*** y los resultados obtenidos contribuirán a la búsqueda de nuevas alternativas de tratamiento para la Estomatitis Subprótesis.
- Tiene **relevancia metodológica**, puesto que el presente trabajo puede ser tomado como guía o referencia para realizar investigaciones similares.

- Tiene **relevancia académica**, puesto que la presente investigación aporta datos trascendentales sobre el efecto antifúngico del extracto etanólico de ***Caesalpinia spinosa*** (Tara) para así contribuir con el aprendizaje y formación de nuevos profesionales.
- Tiene **relevancia social**, puesto que la presente investigación servirá como base para poner al alcance de la comunidad una alternativa de tratamiento de bajo costo y alta efectividad.
- Es de **interés personal**, puesto que la presente investigación me permite obtener nuevos conocimientos para su aplicación posterior en el transcurso de mi ejercicio profesional para el beneficio de la comunidad.

## 1.4. FORMULACIÓN DE LA HIPÓTESIS

### 1.4.1. Hipótesis nula (H<sub>0</sub>)

- No existe diferencia significativa entre el efecto antifúngico in vitro del extracto etanólico obtenido de vainas de ***Caesalpinia spinosa*** (Tara) comparado con Nistatina, sobre un cultivo de ***Candida albicans*** obtenido de pacientes con diagnóstico de Estomatitis Subprótesis que acuden al Centro de Salud Ciudad Nueva de Tacna en el año 2020.

### 1.4.2. Hipótesis alterna (H<sub>a</sub>)

- Existe diferencia significativa entre el efecto antifúngico in vitro del extracto etanólico obtenido de vainas de ***Caesalpinia spinosa*** (Tara) comparado con Nistatina, sobre un cultivo de ***Candida albicans*** obtenido de pacientes con diagnóstico de Estomatitis Subprótesis que acuden al Centro de Salud Ciudad Nueva de Tacna en el año 2020.

## 1.5. OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES

OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES			
TÍTULO: "EFECTO ANTIFÚNGICO IN VITRO DEL EXTRACTO ETANÓLICO OBTENIDO DE VAINAS DE <i>Caesalpinia spinosa</i> (TARA) COMPARADO CON DISCOS DE SENSIBILIDAD DE NISTATINA, SOBRE UN CULTIVO DE <i>Candida albicans</i> OBTENIDO DE PACIENTES CON DIAGNÓSTICO DE ESTOMATITIS SUBPRÓTESIS QUE ACUDEN AL CENTRO DE SALUD CIUDAD NUEVA DE TACNA EN EL AÑO 2020."			
VARIABLE	DIMENSIONES	INDICADORES	ESCALA
Independiente:  Extracto etanólico obtenido de vainas de <i>Caesalpinia spinosa</i> (Tara)	Concentraciones del extracto.	mg/ml.	De Razón
Dependiente:  Efecto antifúngico sobre un cultivo de <i>Candida albicans</i> .	Sensibilidad antifúngica según escala de Duraffourd y Lapraz(8).	Diámetros de halos de inhibición por método de Kirby-Bauer(9).	De Razón
De caracterización:  Estomatitis Subprótesis	Características clínicas	Índice de Newton y Ostlund modificada por Kabawat M(10).	Ordinal

## CAPÍTULO II

### MARCO TEÓRICO

#### 2.1. ANTECEDENTES

##### 2.1.1. Antecedentes internacionales

La búsqueda bibliográfica realizada no evidencia antecedentes internacionales acerca del tema de investigación.

##### 2.1.2. Antecedentes nacionales

- **Abanto Vilca M. (Perú 2016)**, en su Tesis de Pregrado “**Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* (Tara) sobre *Streptococcus Mutans ATCC 25175*”**. **Objetivo:** Determinar el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de ***Caesalpinia Spinosa*** (Tara) frente a cepas de *Streptococcus Mutans*. **Muestra:** Para este estudio, la muestra consistió en un grupo de placas de Petri que contenían el extracto hidroalcohólico en estudio y con suficiente inoculación de *Streptococcus mutans*. **Métodos:** Las concentraciones del extracto hidroalcohólico fueron 40%, 60% y 80%, la prueba

de susceptibilidad se realizó por el método de difusión en disco (Kirby-Bauer), y luego la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) se obtuvo por el método de dilución en probeta. **Instrumento:** Estuvo constituido por una tabla para los diámetros de los halos de inhibición y una tabla para las unidades formadoras de colonias para cada concentración de extracto hidroalcohólico estudiado en cada placa de Petri. **Resultados:** Se obtuvo que los promedios de los halos inhibitorios fueron de 8,10 mm; 14,00 mm y 14,80 mm para las concentraciones al 40%; 60% y 80% respectivamente, mientras que la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) la proporcionó el extracto con una concentración al 40%. **Conclusiones:** El trabajo de investigación concluyó que el extracto hidroalcohólico estudiado tiene un efecto antimicrobiano in vitro frente a las cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175(11).

- **Benites Gómez C. (Perú 2015)**, en su Tesis de Pregrado “Efecto inhibitorio in vitro del extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* (“Tara”) sobre cepa de *Candida*

**Albicans ATCC 90028". Objetivo:** Comparar el efecto inhibitorio in vitro de cuatro concentraciones del extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* frente a *Candida Albicans* ATCC 90028. **Muestra:** Para este estudio, la muestra consistió en un grupo de placas de Petri, inoculadas con la levadura mencionada, sobre las cuales se puso a prueba el extracto hidroalcohólico en estudio en diversas concentraciones. **Métodos:** Se obtuvo el extracto hidroalcohólico en estudio a concentraciones de 25%; 50%; 75% y 100%; posteriormente se aplicaron a las placas de Petri inoculadas con las cepas de la levadura ya mencionada con la finalidad de determinar el efecto inhibitorio mediante el método de difusión de discos (Kirby-Bauer). **Instrumento:** Estuvo constituido por una tabla para los diámetros de los halos de inhibición y una tabla para las unidades formadoras de colonias para cada concentración de extracto hidroalcohólico estudiado en cada placa de Petri. **Resultados:** Los promedios de diámetros de los halos inhibitorios fueron de 8,6 mm; 10,9 mm; 14,6 mm y 17,75 mm para las concentraciones al 25%; 50%; 75% y 100% respectivamente, mientras que la Concentración

Mínima Inhibitoria (CMI) la proporcionó el extracto con una concentración al 50%. **Conclusiones:** El trabajo de investigación concluyó que el extracto hidroalcohólico estudiado tiene un efecto antimicrobiano in vitro frente a las cepas de *Candida albicans* ATCC 90028(12).

- **Centurión Villar K. (Perú 2015)**, en su Tesis de Maestría “**Efecto antibacteriano in vitro de diferentes concentraciones del extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* (Tara) frente a *Streptococcus Mutans* ATCC 35668**”. **Objetivo:** Determinar el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* (Tara) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 35668. **Muestra:** Para este estudio, la muestra incluyó 64 observaciones (4 grupos que eran conformados por 4 placas cada uno; cada placa incluía 1 concentración del extracto hidroalcohólico en estudio y 3 controles). **Métodos:** Primero se inoculó cepas de *Streptococcus mutans* en las 4 placas de Petri de los 4 grupos formados y se hicieron agujeros en cada una de ellas (4 agujeros equidistantes) con un sacabocados para inocular el grupo experimental y los grupos de control (un primero con la concentración del extracto

hidroalcohólico en estudio, un segundo con una concentración similar para compararlo, un tercero con clorhexidina al 0,12% como control positivo y un cuarto con etanol como control negativo). **Instrumento:** No refiere el instrumento utilizado en su trabajo de investigación. **Resultados:** Las medianas de los diámetros de los halos inhibitorios fueron de 16 mm; 18 mm; 29,5 mm y 34,5 mm para las concentraciones al 5%; 10%; 20% y 30% respectivamente, mientras que la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) la proporcionó el extracto con una concentración al 30%. **Conclusiones:** El trabajo de investigación concluyó que el extracto hidroalcohólico estudiado tiene un efecto antimicrobiano in vitro frente a las cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 35668(13).

- **Montenegro Chipana A. (Perú 2014)**, en su Tesis de Pregrado “**Actividad antibacteriana de *Caesalpinia spinosa* (Tara) sobre *Porphyromonas Gingivalis*”**. **Objetivo:** Determinar el efecto antibacteriano in vitro de cinco concentraciones de extracto alcohólico de la ***C. spinosa*** “Tara” sobre *Porphyromonas gingivalis*. **Muestra:**

Para este estudio la muestra estuvo compuesta por cepas de *Porphyromonas gingivalis* las cuales ya han sido identificadas por el laboratorio MICROBIOLOGIC y son comercializadas en Perú a través de la casa comercial "GENLAB". **Métodos:** Se puso a prueba la actividad antimicrobiana in vitro del extracto hidroalcohólico en estudio en 5 concentraciones diferentes (6,25 mg/ml; 12,5 mg/ml; 25 mg/ml; 50 mg/ml y 75 mg/ml), junto a sus respectivos controles, uno positivo con Clorhexidina al 0,12% y uno negativo con alcohol al 70%, frente a la cepa *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 a través del método de difusión por disco (Kirby-Bauer). **Instrumento:** Estuvo constituido por una tabla en la que se recogió el diámetro del halo de inhibición de cada concentración del extracto hidroalcohólico en estudio y sus respectivos controles. **Resultados:** Las medias de los diámetros de los halos inhibitorios fueron de 12,5 mm; 13,5 mm; 10 mm; 12,5 mm y 7 mm para las concentraciones al 6,25%; 12,5%; 25%; 50% y 75% respectivamente. **Conclusiones:** El trabajo de investigación concluyó que el extracto hidroalcohólico estudiado tiene un efecto antimicrobiano in

vitro frente a las cepas de Porphyromonas Gingivalis ATCC 33277(14).

- **Huarino Acho M. (Perú 2011)**, en su Tesis de Pregrado “**Efecto antibacteriano de *Caesalpinia spinosa* (Tara) sobre flora salival mixta**”. **Objetivo:** Determinar el efecto antibacteriano in Vitro de diferentes concentraciones del extracto alcohólico de la *C. spinosa* “Tara” sobre cultivos de flora salival mixta. **Muestra:** Para este estudio la muestra incluyó muestras de saliva correspondientes de 25 pacientes adultos. **Métodos:** Primero se estandarizó las muestras de saliva obtenidas, luego se preparó el extracto hidroalcohólico en estudio a 6,25 mg/ml; 12,5 mg/ml; 25 mg/ml; 50 mg/ml y 75 mg/ml para posteriormente ser puestas a prueba junto a sus respectivos controles, uno positivo con Clorhexidina al 0,12% y uno negativo con alcohol al 70%, sobre las placas inoculadas con las muestras de saliva mediante el método de difusión por disco (Kirby-Bauer). **Instrumento:** Estuvo constituido por una tabla en la que se recogió el diámetro del halo de inhibición de cada concentración del extracto hidroalcohólico en estudio y sus respectivos controles.

**Resultados:** Las medias de los diámetros de los halos inhibitorios fueron de 12,32 mm; 13,8 mm; 14,92 mm; 15,48 mm y 17,32 mm para las concentraciones al 6,25 mg/ml; 12,5 mg/ml; 25 mg/ml; 50 mg/ml y 75 mg/ml respectivamente. **Conclusiones:** El trabajo de investigación concluyó que el extracto hidroalcohólico estudiado tiene un efecto antimicrobiano in vitro frente a la flora salival mixta(15).

### **2.1.3. Antecedentes locales**

La búsqueda bibliográfica realizada no evidencia antecedentes locales acerca del tema de investigación.

## 2.2. BASE TEÓRICO – CIENTÍFICO

### 2.2.1. *Caesalpinia spinosa* (Tara)

#### a. Descripción botánica

- **Arbusto:** tiene un tamaño que oscila de dos a tres metros de altura, con un tronco corto, cilíndrico, a veces sinuoso, de color grisáceo, áspero, con espinas aplanadas de forma triangular, posee delgadas ramas desde casi la base simulando que tuviera numerosos tallos (16).
- **Hojas:** son compuestas bipinnadas, dispuestas en espiral, peciolo hasta 3 cm, raquis de 3 a 7 cm, 2 a 3 pares de pinnas opuestas, 7 a 8 pares de folíolos opuestos oblongos, ápice marginado, diminutamente mucronado, base asimétrica, glabra (16).
- **Inflorescencias:** 8 a 12 cm de largo en racimos (16).
- **Flores:** hermafrodita, con simetría bilateral, cáliz tubular, púber con segmentos obtusos, de 3 mm de largo, con fibras de pectina en la parte superior; corola con 5 pétalos de color amarillo, de forma redonda, de espiga o a veces alargado, filamentos filosos o glandulares y pistilo curvo de color verde (16).

- **Frutos:** son legumbres de color rojizo, alargadas de hasta 11 cm de largo, no se abre espontáneamente al madurar, tienen mesocarpio arenoso y esponjoso que contienen 9 a 12 semillas de dura y lustrosa superficie, color marrón pardo, en forma de riñón y de aproximadamente 10 mm x 5 mm x 3 mm (16).

**b. Distribución geográfica**

En el Perú se distribuye en los departamentos de Ancash, Apurímac, Arequipa, Ayacucho, Cajamarca, Huancavelica, Huánuco, Ica, Junín, La Libertad, Lambayeque, Lima, Moquegua, Piura y Tacna, creciendo naturalmente entre 500 y 3200 metros sobre el nivel del mar; sin embargo, en una plantación (en donde el agua y los nutrientes están bajo control) podría crecer hasta a un mínimo de 50 metros sobre el nivel del mar (6).

Nuestro país es la zona con mayor superficie de bosques de Tara, el 80% de la producción mundial es nuestra; otros países también la producen, pero en pequeña cantidad, como Bolivia, Colombia, Chile, Ecuador y Venezuela.

También se cultiva en el norte y este de África, Estados Unidos, Brasil y Argentina (16).

Ésta especie botánica prefiere crecer en suelo arenoso, calcáreo, ligero y suelto con buen drenaje. También crece en suelos con alto contenido de arcilla, pedregosos y degradados, que no son aptos para la agricultura convencional (6).

El hábitat natural de ***Caesalpinia spinosa*** (Tara) descrito anteriormente es coincidente con el ecosistema que se presenta en nuestra Región Tacna.

### c. Ubicación taxonómica

**Nombre científico:** *Caesalpinia spinosa*

**Taxonomía:**

- Reino: Plantae
- División: Magnoliophyta
- Clase: Magnoliopsida
- Subclase: Rosidae
- Orden: Fabales
- Familia: Fabaceae
- Género: *Caesalpinia*
- Especie: *Spinosa*

**Nombre común:** Tara, Taya, Guarango, Dividivi, etc (16).

#### d. Composición química

- **Vainas:** según las condiciones ecológicas de su crecimiento, contiene entre un 40% y un 60% de taninos hidrolizables (galotaninos) (16).
- **Semillas:** están compuestas por aceites volátiles, ácidos grasos, triterpenoides, flavonoides, resinas, taninos, proteínas, carbohidratos y lípidos; generalmente, las semillas son la fuente de compuestos lipídicos, incluidos ácidos grasos, tocoferoles, triglicéridos, fosfolípidos, esfingolípidos y esteroides(17).
- **Hojas:** tiene glucósidos, gomas, mucílagos, taninos (12,7% en la forma de taninos gálicos), antraquinonas: reina, senósido, agliconas libres, C-glucósidos, aloemodina e iso-emodina, esteroides y flavonoides (16).

#### e. Taninos

Son polímeros polifenólicos producidos como compuesto secundario en las plantas, tienen la capacidad de formar complejos con proteínas, polisacáridos, ácidos nucleicos, esteroides, alcaloides y saponinas; son los responsables del efecto defensivo frente a insectos que tienen las

plantas. Son polvos amorfos de color amarillo pálido, aspecto graso y denso, solubles en agua y alcohol (pero insolubles en éter, benceno y cloroformo) presentes en vainas, semillas, hojas, corteza y frutos inmaduros, tienen propiedades astringentes y pueden curtir la piel. Los taninos existen en especies de plantas en todo el mundo, aproximadamente 500 especies de plantas contienen cantidades variables de taninos y las principales familias de plantas para la obtención de taninos incluyen: Leguminosae, Rosaceae, Polygonaceae, Fagaceae, Rhyzophoraceae y Myrtaceae (17).

Desde un punto de vista biológico, los taninos son unas sustancias complejas con funciones bactericidas o protectoras, que son producidas por las especies vegetales (18).

- **Características:**

- Son compuestos no cristalizables y su solución acuosa es coloidal, con reacción ácida y tiene un sabor astringente (18).

- Precipitan en solución con gelatina, albúmina y alcaloides (18).
- Junto con las sales férricas, producen colores azul-negros o verdes (18).
- Junto con el ferricianuro de potasio y el amoníaco, producen un fuerte color rojo (18).
- Son resistentes a las enzimas proteolíticas debido a que precipitan proteínas en solución y se unen a ellas. Esta propiedad se mencionó anteriormente y se llama astringencia (18).

- **Actividad terapéutica:**

- Como antídoto, en caso de intoxicaciones por alcaloides y metales pesados (19).
- Son astringentes, porque puede precipitar proteínas de la saliva, de la piel, etc. Debido a esta capacidad se utiliza de forma externa también como agente cicatrizante y de forma interna como antidiarreico (19).

- Son antisépticos, porque tienen efectos bactericidas y bacteriostáticos. Dicho efecto también se manifiestan frente a levaduras (19).
- Son protectores, porque utilizados vía tópica externa en forma de ungüento puede impermeabilizar la piel y protegerla de agentes extraños (19).
- Son antioxidantes, porque pueden impedir la peroxidación lipídica y la autooxidación del ácido ascórbico (Vitamina C) (19).

- **Taninos hidrolizables**

Son ésteres que pueden ser hidrolizados fácilmente, están formados por la unión de una molécula de azúcar (generalmente glucosa) con un variable número de moléculas de ácido fenólico (ácido gálico o ácido elágico). En plantas dicotiledóneas son muy comunes y producen pirogalol después de su destilación en seco (19).

Podemos mencionar a los taninos que se obtienen del fruto de ***Caesalpinia spinosa*** como un ejemplo de este

tipo de taninos, el cual es hidrolizable por la acción de la enzima tanasa fácilmente (20).

- **Taninos condensados**

Son polímeros flavánicos que son formados por la polimerización de leucoantocianos y catequinas. Podemos encontrarlos en plantas dicotiledóneas al igual que los taninos hidrolizables, pero también se producen en gimnospermas y helechos. Debido a su alta resistencia a la hidrólisis sólo se convierten en antocianidinas por hidrólisis enzimática o ácida, y estos pueden formar flobáfenos insolubles cuando polimerizan. Podemos encontrar estos taninos en 3 principales formas: extractables (reactivos con proteína), ligados a proteína y ligados a fibra (19).

### 2.2.2. *Candida albicans*

El género *Candida* incluye un total aproximado de 154 especies, de las cuales *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* y *C. dubliniensis* se aíslan a menudo de infecciones humanas; la más relevante entre ellas es ***Candida albicans*** debido a que produce entre el 60% y 70% de las infecciones orales (21).

Estas levaduras forman parte de la microbiota normal de la boca (mucosa oral, paladar, lengua), tracto digestivo (intestino, estómago), vagina y el medio ambiente (22).

#### a. Ubicación taxonómica (23)

REINO : Fungi  
CLASE : Saccharomycetes  
ORDEN : Saccharomycetales  
FAMILIA : Saccharomycetaceae  
GENERO : *Candida*  
ESPECIE : *C. albicans*

## b. Descripción

***Candida albicans*** es una levadura aerobia, gram positiva que puede desarrollar pseudofilamentos y producir clamidosporas (tipo de espora asexual). Es de forma oval, posee paredes delgadas y tiene un diámetro que varía entre 2  $\mu\text{m}$  a 4  $\mu\text{m}$ . Las colonias que forma son cremosas, húmedas, con un aroma dulce y si son inoculadas en medios de cultivo cromogénicos tendrán un color verde esmeralda (23).

## c. Estructura celular

- **Pared celular:** está constituida entre un 80% a un 90% de carbohidratos y alrededor de un 10% de proteínas y glicoproteínas. Dicha pared celular es la que proporciona la resistencia y rigidez para proteger la membrana celular de un shock osmótico (24).
- **Membrana:** está compuesta por una bicapa de varios fosfolípidos, especialmente fosfatidilcolina y la fosfatidiletanolamina, también contiene esteroides como ergosterol y zosterol; los antimicóticos actúan a este nivel. Dicha membrana protege el citoplasma, regula la

salida y entrada de solutos y promueve la síntesis de la pared celular (24).

- **Citoplasma:** contiene mitocondrias de doble capa, ribosomas, vacuolas y gránulos de glucógeno. Tiene un núcleo con una membrana nuclear limitante, posee ADN y ARN, y varios cromosomas (24).

#### d. Factores de virulencia

Son aquellos que favorecen la invasión de tejidos y colonización de estos microorganismos, provocando así que logren alcanzar altos niveles de población anticipándose a la respuesta del huésped (21).

- **Adherencia:** la interacción física entre esta levadura y el huésped se produce a nivel de la superficie celular, debido a que las adhesinas presentes en la pared celular promueven su adhesión a células epiteliales, células endoteliales, componentes de la matriz extra celular, factores solubles y materiales inertes implantados en el cuerpo del hospedero (25).
- **Hidrofobicidad de la Pared Celular:** está relacionado con la adhesión de blastosporas de la levadura a las

células epiteliales humanas. Los cambios en las proteínas en de la pared celular de ***Candida albicans*** son el motivo del cambio de hidrófobo a hidrófilo (26).

- **Hifas:** cuando ocurre la formación de hifas, simultáneamente se producen proteinasas para ayudar a destruir la integridad de la mucosa oral (27).
- **Enzimas:** la Fosfolipasa A y la Lisofosfolipasa producidas por esta levadura se adhieren firmemente a las células epiteliales orales y tienen una alta actividad enzimática. Las proteasas juegan un papel importante en la adhesión e invasión de la levadura al epitelio oral (21).
- **Bacterias de la cavidad oral:** estos microorganismos en la cavidad oral promueven la colonización y proliferación de ***Candida albicans***, especialmente en ausencia de glucosa (27).
- **Saliva:** la saliva aumenta la capacidad de adhesión de esta levadura. La composición de la saliva no solo incluye algunas sustancias que inhiben la proliferación de bacterias, también contiene glucoproteínas del tipo mucina que mejoran la adherencia de ***Candida albicans***

a la superficie acrílica de las prótesis removibles; por lo tanto, facilita la aparición de la Estomatitis Subprótesis (28).

- **pH:** un pH ácido en la cavidad oral promueve la colonización de ***Candida albicans***. El pH salival normalmente suele estar entre 5,6 y 7,8; pero se ve disminuido por debajo de las prótesis removibles, lo cual facilita la adhesión de la levadura (28).

#### **e. Identificación**

Este tipo de levadura crece en Potato Dextrose Agar (PDA) a 37°C durante 48 horas, se les puede observar en colonias redondas de color blanco lechoso. Hay varias pruebas que se utilizan para la identificación de ***Candida albicans***, como, por ejemplo:

- Prueba de tubo germinativo.
- Asimilación de carbohidratos con el Sistema API.
- Producción de clamidoconidios en Agar Harina de Maíz.

Entre todas ellas la prueba de tubo germinativo es la más importante, la cual requiere primero inocular a ***Candida albicans*** en plasma humano para luego ser llevado a la Incubadora a una temperatura de 37°C por 2 horas; esta levadura es la única capaz de formar tubo germinativo en este lapso. Este tubo germinativo es un filamento que se extiende desde la célula progenitora, tiene paredes paralelas, su ancho por lo general es de la mitad del ancho de su célula progenitora mientras que su longitud es aproximadamente 3 o 4 veces más extensa que esta. Sólo ***Candida albicans*** tiene la capacidad de producir tubos germinales reales; sin embargo, otras especies como *Candida tropicalis* producen pseudohifas que se ven muy parecidas, pero estas tienen una zona de contracción cerca de la célula progenitora, por lo tanto, esta característica es clave para distinguir a ***Candida albicans*** de las demás especies de *Candida* (28,29).

### 2.2.3. Estomatitis Subprótesis

Es el nombre que se le da a la afección inflamatoria de la mucosa oral asociado al uso de prótesis removibles, cuyas principales características son la presencia de zonas eritematosas e inflamadas en la mucosa oral que está en contacto directo con la parte interna de la prótesis removable (30).

Es más frecuente encontrar esta afección en la población femenina de avanzada edad, usualmente localizada en la superficie del paladar que está en contacto directo con la parte interna de la prótesis. Se presenta por múltiples causas, sin embargo, ha sido relacionada principalmente a la presencia de ***Candida albicans*** (31).

#### a. Clasificación

Newton y Ostlund, desde la perspectiva de la patología clínica, clasificaron a la Estomatitis Subprótesis en tres tipos (31):

- **Tipo I:** se manifiesta como una pequeña inflamación focal y la presencia de pequeños puntos de color rojo, provocado por la obliteración de los conductos de las

glándulas salivales menores. Esta inflamación es local, delimitada y está asociada con el trauma protésico(31).

- **Tipo II:** se manifiesta como una inflamación difusa y toda la zona cubierta por la prótesis toma un color rojizo. Este grado de la enfermedad está relacionado a distintos factores, de los cuales destacan la infección por ***Candida albicans*** y el trauma protésico (31).
- **Tipo III:** se manifiesta como una inflamación intensa, con una mucosa hiperémica de apariencia nodular en toda la zona donde descansa la prótesis. Este grado de la enfermedad es causado por infección por ***Candida albicans*** acompañada con un trauma protésico (31).

Kabawat y col. En su estudio titulado “Phase 1 clinical trial on the effect of palatal brushing on denture stomatitis” describe una modificación a la clasificación descrita anteriormente por Newton y Ostlund, en la cual propone una subdivisión de la Estomatitis Subprótesis Tipo I (10):

- Tipo 0 : Mucosa saludable.
- Tipo IA : Petequias en tejido palatino normal, usualmente encontradas alrededor de los orificios de los ductos de glándulas mucosas palatinas.
- Tipo IB : Área hiperémica localizada en la zona protésica.
- Tipo II : Área generalizada de inflamación de la zona protésica.
- Tipo III : Superficie palatina hiperplásica con inflamación en el área protésica.

#### **b. Epidemiología**

La Estomatitis Subprótesis es muy común en la población que usa prótesis removibles y, según diversos autores, la prevalencia se sitúa entre el 11% y el 67%. La mayoría de los estudios realizados muestran que la Estomatitis Subprótesis tiene un mayor impacto en las mujeres (32).

### c. **Características clínicas**

Comienza con pequeños puntos rojos dispersos, gradualmente se convierten en zonas eritematosas e hiperémicas, y termina con la inflamación de la mucosa e incluso erosión de la misma. Esta afección suele ser asintomática; en algunos pacientes se manifiesta con dolor, picazón, ardor, mal aliento, sensación de sequedad y gusto desagradable. El diagnóstico de esta enfermedad es netamente clínico, y es detectada principalmente mediante el examen clínico intraoral, evidenciando una inflamación de la zona que entra en contacto directo con la parte interna de la prótesis (23).

### d. **Etiopatogenia**

Los estudios muestran que la patogenia de la Estomatitis Subprótesis es multifactorial. Entre estos factores, los más relevantes son (33):

- Malos hábitos de uso de la prótesis.
- Uso de prótesis en mal estado o desadaptadas.
- Déficit en la higiene de la prótesis.
- Infección por ***Candida albicans***.

- Probable reacción alérgica y/o irritación causada por el material del cual se compone la prótesis (aleación metálica o resina).
- Predisposición debido a la presencia de enfermedades sistémicas (33).

### 2.3. DEFINICIÓN DE TÉRMINOS

**2.3.1. Extracto etanólico:** también llamado extracto alcohólico o hidroalcohólico; es un producto viscoso o sólido que se obtiene a través de la maceración de vegetales en contacto con alcohol 70° en un tiempo aproximado de 30 a 45 días (34).

**2.3.2. Principio activo:** sustancia pura aislada responsable de la actividad antimicrobiana y de los beneficios terapéuticos (35).

**2.3.3. Efecto antifúngico:** capacidad de una sustancia (de origen natural, sintético o semi-sintético) de inhibir el crecimiento y/o metabolismo de un hongo y que podría eliminarlo completamente (9).

**2.3.4. Halo de inhibición:** área sin presencia de microorganismos que se forma alrededor de un disco de sensibilidad luego de ser puesto a prueba a través del método Kirby-Bauer sobre un cultivo microbiológico (9).

- 2.3.5. Concentración Mínima Inhibitoria (CMI):** es la concentración mínima de un antimicrobiano para que pueda impedir el crecimiento in vitro de un microorganismo previamente estandarizado (9)
- 2.3.6. Concentración Mínima Fungicida (CMF):** es la concentración mínima de un antimicrobiano para que pueda causar la muerte in vitro del 99,9% de microorganismos previamente estandarizados presentes en un cultivo (9).
- 2.3.7. *Caesalpinia spinosa* (Tara):** es un pequeño árbol de no más de 3 metros de altura, con hojas plumosas y frutos ligeramente planos con un color anaranjado (16).
- 2.3.8. Prótesis:** es un aparato artificial que tiene por finalidad reemplazar algún órgano que se haya perdido, de tal manera que intenta cubrir las necesidades fisiológicas, anatómicas, sociales y/o estéticas del paciente (36).
- 2.3.9. Estomatitis Subprótesis:** es la afección de la mucosa oral asociada al uso de prótesis removibles, cuyas principales características son la presencia de zonas eritematosas e inflamadas en la mucosa oral que está en contacto directo con la parte interna de la prótesis removible (30).

## **CAPÍTULO III**

### **MARCO METODOLÓGICO**

#### **3.1. TIPO, NIVEL Y DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN**

Según Argimon Pallás (37), el presente trabajo de investigación es de tipo analítico, experimental, in vitro, controlado, aleatorizado, longitudinal y prospectivo; catalogado dentro de esta clasificación como un ensayo farmacológico en etapa preclínica.

#### **3.2. ÁMBITO DE ESTUDIO**

##### **3.2.1. Ámbito geográfico**

El presente trabajo de investigación se llevó a cabo en el departamento de Tacna, provincia de Tacna, distritos de Ciudad Nueva y Tacna.

##### **3.2.2. Ámbito temporal**

La presente investigación se desarrolló en el año 2020.

### **3.2.3. Ámbito físico**

El presente trabajo de investigación se desarrolló en dos ambientes físicos:

- El aspecto clínico se desarrolló en el Servicio de Odontología del Centro de Salud Ciudad Nueva de Tacna
- El aspecto laboratorial en el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann de Tacna.

## **3.3. POBLACIÓN Y MUESTRA**

### **3.3.1. Población de estudio**

La población de estudio está constituida por todos los cultivos de *Candida albicans* obtenidos de pacientes con diagnóstico de Estomatitis Subprótesis que acuden al Centro de Salud Ciudad Nueva de Tacna en el año 2020.

### **3.3.2. Muestra**

La muestra del presente estudio es del tipo censal ya que se incluye a toda la población de estudio.

### 3.4. TÉCNICA E INSTRUMENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS

#### 3.4.1. Técnica

- **Variable Independiente: Extracto etanólico obtenido de vainas de *Caesalpinia spinosa* (Tara).**

La técnica de recolección de datos para esta variable fue la observación directa la cual se realizó mediante la descripción de la cantidad de mg de extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* por cada ml de agua destilada en cada concentración preparada (mg/ml).

- **Variable Dependiente: Efecto antifúngico sobre un cultivo de *Candida albicans*.**

La técnica de recolección de datos para esta variable fue la observación directa la cual se realizó mediante la descripción del halo inhibitorio presente en la placa inoculada con cepas puras de *Candida albicans* luego de ser sometidas al método de Kirby-Bauer(9) con discos de sensibilidad (impregnados con el extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* o Nistatina) y su posterior anotación en una ficha para su interpretación según la escala de Duraffourd y Lapraz, 1986(8) (ver ANEXO n.º 9).

- **Variable de Caracterización: Estomatitis Subprótesis.**

La técnica de recolección de datos para esta variable fue la observación directa la cual se realizó mediante el examen clínico intraoral a los pacientes afectados con esta enfermedad (de quienes se obtuvo las muestras microbiológicas) y su posterior anotación en una ficha para determinar su severidad según la clasificación de Newton y Ostlund modificada por Kabawat M (10).

### **3.4.2. Instrumento**

El instrumento utilizado en la presente investigación es una lista de cotejo, la cual nos permitió recoger los datos necesarios para cada variable de forma ordenada y sistematizada (ver ANEXO n.º 1).

### **DESCRIPCIÓN DEL INSTRUMENTO**

Dicho instrumento está constituido por 5 partes:

- **DATOS SOCIODEMOGRÁFICOS**

Se recogió información de edad y género de los pacientes de quienes se obtuvo la muestra microbiológica.

- **CUESTIONARIO**

Se recogió información de los pacientes respecto al uso de prótesis removible, tipo de prótesis removible, presencia de enfermedad sistémica, tiempo de la enfermedad sistémica, consumo de algún fármaco; dosis, frecuencia y tiempo de uso del fármaco.

- **EXAMEN CLÍNICO INTRAORAL: ESTADO DE SALUD DE LA MUCOSA ORAL**

Se recogió información de los pacientes respecto al estado de salud de la mucosa oral a través de la determinación de la severidad de la Estomatitis Subprótesis que presenta según la clasificación de Newton y Ostlund modificada por Kabawat M (10).

- **PRUEBA DE SENSIBILIDAD ANTIFÚNGICA POR MÉTODO DE KIRBY-BAUER**

Se recogió información, en un cuadro, de los halos de inhibición formados por los discos impregnados con el extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* y Nistatina luego de haber sido puestos a prueba sobre las placas de

Petri inoculadas con cepas puras de *Candida albicans* a través del método de Kirby-Bauer (9).

- **ESCALA DE DURAFFOURD Y LAPRAZ**

Se recogió información del cuadro anterior y se procedió a categorizarlos en otro cuadro según la escala de Duraffourd y Lapraz, 1986 (8) (ver ANEXO n.º 9).

## **VALIDACIÓN DEL INSTRUMENTO**

La validación del instrumento se llevó a cabo a través de juicio de expertos en el que participaron 05 jurados con amplia experiencia en el área investigada (ver ANEXO n.º 4). Luego de la evaluación se procedió a analizar los resultados a través de un estadístico, la V de Aiken, el cual nos brinda información acerca de la proporción de jueces expertos que dan su aprobación y valoración positiva respecto al instrumento. El resultado que se obtuvo es de 0,975, el cual es superior al valor mínimo de aceptación  $\geq 0,80$  (ver ANEXO n.º 5).

### **3.5. PROCEDIMIENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS**

#### **3.5.1. Recolección de *Caesalpinia spinosa* (TARA)**

Durante la primera semana se realizó la recolección de vainas de *Caesalpinia spinosa* (Tara) en un pequeño valle ubicado en el Sector Copare colindante con Magollo en el mes de enero del año 2020. La recolección se llevó a cabo a través de herborización, un método tradicional que consiste en recolectar muestras de la especie en estudio dentro de un área natural que no haya sido modificada por el ser humano; dicho procedimiento se realizó en horas de la mañana para poder verificar con claridad que las vainas se encuentren íntegras y sin presencia de alteraciones, asegurando así las buenas condiciones de la muestra recolectada.

#### **3.5.2. Preparación de la muestra recolectada**

Luego de la recolección de la muestra de la especie en estudio se procedió a realizar la preparación previa de la misma para la obtención del extracto etanólico. Para transportar la muestra recolectada durante todo el procedimiento se le almacenó dentro de un saco de papel.

- **Lavado y desinfección:** se realizó un profuso lavado de las vainas recolectadas con agua para eliminar por arrastre físico cualquier sustancia extraña y posteriormente se realizó su desinfección con hipoclorito de sodio al 0,5%.
- **Secado:** se realizó un secado natural de la muestra recolectada colocándolas sobre rejillas, para que pueda gotear todo el líquido que aún estaba sobre ellas, por 3 días dentro de un cuarto con ventilación y fuera del alcance de los rayos directos del sol.
- **Molienda:** luego del secado, durante la segunda semana, se procedió a realizar la molienda con la ayuda de un molino manual, previamente lavado y desinfectado.

### **3.5.3. Obtención del extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* (TARA)**

Luego de haber pulverizado la muestra recolectada se procedió a pesarla y se obtuvo 1298,68 g; posterior a ello se colocó toda la muestra en un frasco de vidrio, en este caso se utilizó una damajuana de color verde, el cual fue previamente lavado con agua y desinfectado con alcohol de 70°; luego se procedió a verter alcohol de 70° en el mismo recipiente hasta casi llenarlo.

Después de colocar todo dentro del recipiente de vidrio se procedió a taparlo con su corcho y luego envolver todo el recipiente con papel aluminio para así dejarlo macerar por un mínimo de 30 a 45 días agitándolo enérgicamente cada 8 horas, es decir, 3 veces al día.

Cabe resaltar que en este caso se dejó macerar por un año debido a que nuestro país se encuentra en un estado de emergencia sanitaria, lo que impidió el ingreso al campus de la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann, lugar donde se desarrolló el presente trabajo de investigación.

Un año después, durante la semana n.º 55, habiendo transcurrido el tiempo de maceración se realizó el filtrado del contenido usando papel filtro Albet® N° 40, el cual se amoldó a la superficie interna de un embudo de vidrio, obteniendo así un extracto etanólico recolectado en una probeta de vidrio.

Luego de realizar el procedimiento de filtrado, se vertió el contenido de las probetas en placas grandes para llevarlas a desecar en un Drawer Drier modelo IC106D de la marca DIDACTA ITALIA a una temperatura de 40°C hasta la completa sequedad, obteniendo así una masa sólida.

Finalmente, se procedió a triturar el extracto ya solidificado con ayuda de un bisturí para retirarlo de las placas y almacenarlo en un frasco de color ámbar hasta el momento en el que se preparen las concentraciones respectivas.

#### **3.5.4. Recolección de las muestras microbiológicas**

En la semana n.º 56, primero se preparó Caldo Infusión Cerebro Corazón (Caldo BHI) de la marca ©Liofilchem® para luego verterlo en 15 tubos de ensayo de 13 mm x 100 mm; el volumen de Caldo BHI que se puso en cada tubo de ensayo fue de 5 ml por lo que se preparó un total de 75 ml según las indicaciones del fabricante:

$$1000 \text{ ml} \longrightarrow 37 \text{ g}$$

$$75 \text{ ml} \longrightarrow X \text{ g}$$

$$X = 2,775 \text{ g}$$

Se pesó la cantidad de Caldo BHI obtenida en el cálculo anterior sobre un pedazo de papel aluminio en una balanza analítica y después se procedió a mezclarlo con agua destilada en un Matraz Erlenmeyer mediante movimientos circulares hasta que quedó totalmente homogéneo.

Luego se vertió la solución en los tubos de ensayo para proceder a colocarlos en un recipiente más grande y a empaquetarlo para esterilizar en autoclave a una temperatura de 121°C con una presión de 15 psi y un tiempo de 15 minutos según las indicaciones del fabricante.

Después del proceso de esterilizado fueron almacenadas en una caja térmica con paquetes de gel refrigerante para transportarlos hasta el lugar donde se tomaron las muestras de los pacientes diagnosticados con la enfermedad.

Las muestras microbiológicas se recolectaron de un total de 15 pacientes con diagnóstico de Estomatitis Subprótesis a través de un frotis con hisopos estériles sobre la zona de la mucosa afectada, los cuales luego pasaron a ser sumergidos en cada uno de los tubos de ensayo preparados anteriormente; conforme se iban tomando las muestras se iban también enumerando cada uno de los tubos con un plumón indeleble.

### 3.5.5. Procesamiento de las muestras microbiológicas recolectadas

Luego de haber recolectado todas las muestras se procedió a llevarlas dentro de la caja térmica hacia el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann donde fueron llevadas a incubación a 37°C por 24 horas; después de ello, se procedió a esterilizar 15 placas de Petri de vidrio en una estufa a 180°C por 30 minutos y luego fueron almacenadas hasta el momento de su utilización, cabe resaltar que la esterilización se realizó según las recomendaciones de la Organización Panamericana de la Salud(38).

Al día siguiente en horas de la mañana se preparó Agar Papa Dextrosa (PDA) de la marca ©Liofilchem® que después de su esterilización fue vertido en las 15 placas de Petri previamente esterilizadas, el volumen de PDA que se puso en cada placa de Petri fue de 15 ml por lo que se preparó un total de 225 ml según las indicaciones del fabricante:

$$\begin{array}{l} 1000 \text{ ml} \quad \longrightarrow \quad 42 \text{ g} \\ 225 \text{ ml} \quad \longrightarrow \quad X \text{ g} \\ X = 9,45 \text{ g} \end{array}$$

Se pesó la cantidad de PDA obtenida en el cálculo anterior sobre un pedazo de papel aluminio en una balanza analítica y después se procedió a mezclarlo con agua destilada en un Matraz Erlenmeyer mediante movimientos circulares.

Inicialmente se observó que tenía una apariencia turbia, así que se llevó a hervir sobre una cocina eléctrica hasta que tenga una apariencia totalmente cristalina.

Luego se tapó la boca del matraz con una torunda de algodón, se le empaquetó y fue puesto a esterilizar por autoclave a una temperatura de 121°C con una presión de 15 psi y un tiempo de 15 minutos según las indicaciones del fabricante.

Después del proceso de esterilizado se esperó a que enfríe hasta llegar a una temperatura aproximada de 45°C según las indicaciones del fabricante para poder ser vertido en las placas de Petri; sin embargo, antes de ello se realizó un cálculo para la obtención de un medio de cultivo con un 0,2% de Cloranfenicol en su composición.

$$1000 \text{ ml} \longrightarrow 2 \text{ g}$$

$$225 \text{ ml} \longrightarrow X \text{ g}$$

$$X = 0.45 \text{ g}$$

Se pesó la cantidad de Cloranfenicol obtenida en el cálculo anterior sobre un pedazo de papel aluminio en una balanza analítica y después se procedió a mezclarlo con el medio de cultivo estéril cuando llegó a 42°C mediante movimientos circulares hasta que quedó totalmente homogéneo.

Luego de obtener el PDA con un 0,2% de Cloranfenicol se prosiguió a verter el medio de cultivo en las placas de Petri esterilizadas anteriormente y se espera a que enfríen.

Cuando se cumplió las 24 horas de incubación de las muestras en Caldo BHI se procedió a retirarlas de la incubadora y se observó la presencia de turbidez en todos los tubos; se enumeró cada una de las placas con medio de cultivo y se realizó una siembra por estrías en cuatro cuadrantes siguiendo el protocolo descrito por Mendo Rubio, 1995 (39):

- Primero se flameó el asa de Kolle hasta llegar al rojo vivo (esterilización por calor al rojo vivo) manteniéndola casi verticalmente.
- Se tomó un tubo de ensayo con la muestra, se le quitó la torunda de algodón, se flameó la boca del tubo de ensayo, se sumergió el asa estéril en el Caldo BHI y al retirarlo se observó que se formó una película en la punta del asa

(asada); se flameó nuevamente la boca del tubo de ensayo y luego fue tapado con su torunda de algodón.

- Se tomó la placa de Petri correspondiente a la muestra, se flameó y se abrió parcialmente para distribuir el inóculo por estrías en 4 cuadrantes.
- En el primer cuadrante se realizó amplios movimientos de zigzag desde el borde externo hacia el centro y viceversa.
- En el segundo cuadrante se realizó amplios movimientos de zigzag solo desde el borde externo hacia el centro.
- En el tercer cuadrante se realizó movimientos medianos de zigzag solo desde el borde externo hacia el centro.
- En el cuarto cuadrante se realizó movimientos cortos de zigzag solo desde el borde externo hacia el centro.
- Finalmente se tapó la placa de Petri y se volvió a esterilizar el asa de Kolle.

Cabe resaltar que todo el procedimiento mencionado para el aislamiento por estrías se realizó a una distancia no mayor de 10 cm de la llama de un mechero que se encontraba entre nuestro cuerpo y nuestras manos.

Luego de repetir el procedimiento descrito anteriormente para cada una de las muestras recolectadas se procedió a

empaquetar nuevamente las placas de Petri con su respectiva envoltura y se llevó a incubar con una temperatura de 37°C por 24 horas.

Al día siguiente en horas de la mañana se preparó PDA para verterlo en 15 viales de vidrio y así obtener medio de cultivo con agar inclinado o “pico de flauta”; el volumen de PDA que se vertió en cada vial fue de 7 ml por lo que se preparó un total de 105 ml según las indicaciones del fabricante:

$$1000 \text{ ml} \longrightarrow 42 \text{ g}$$

$$105 \text{ ml} \longrightarrow X \text{ g}$$

$$X = 4,41 \text{ g}$$

Se pesó la cantidad de PDA obtenida en el cálculo anterior sobre un pedazo de papel aluminio en una balanza analítica y después se procedió a preparar el medio de cultivo con las mismas indicaciones anteriormente descritas, sin embargo, en esta ocasión antes de esterilizar este medio se vertió en cada uno de los 15 viales, se puso una torunda de algodón en cada una de las bocas de los viales, se empaquetaron dentro de un recipiente más grande y fueron llevados a esterilizar por autoclave a una temperatura de 121°C con una presión de 15

psi y un tiempo de 15 minutos según las indicaciones del fabricante.

Después del proceso de esterilizado se enumeró cada vial y se puso a enfriar cada uno de ellos en forma inclinada, apoyados en una gradilla, para así obtener medio de cultivo con agar inclinado o “pico de flauta”.

Cuando se cumplió las 24 horas de incubación de las muestras en las placas de Petri con PDA se procedió a retirarlas de la incubadora y se observó colonias redondas de color blanco-cremosas con las siguientes características:

- Sobre las estrías del primer cuadrante se desarrolló unas masas fúngicas indiferenciadas.
- Sobre las estrías del segundo cuadrante hubo un desarrollo casi uniforme con algunas colonias ligeramente aisladas.
- Sobre las estrías del tercer y cuarto cuadrante se observó pocas colonias, pero de desarrollo normal y diferenciadas.

Estas últimas colonias definidas y diferenciadas son las que se eligieron para el trasplante en medio de cultivo con agar inclinado o “pico de flauta” y así obtener cepas puras de ***Candida albicans*** en estos viales siguiendo el protocolo descrito por Mendo Rubio, 1995 (39):

- Primero se examinó la placa y se escogió la colonia que sería a trasplantada.
- Luego se tomó el asa de Kolle y se esterilizó por calor al rojo vivo manteniéndolo casi verticalmente.
- Se tocó con el asa una zona donde había solo agar para dejarlo enfriar, luego de ello se procedió a tomar una asada de la colonia seleccionada previamente y se cerró la placa de Petri.
- Se tomó el vial correspondiente a la muestra, se le quitó la torunda de algodón, se flameó la boca del vial, el asa con el inóculo fue introducida y se empezó a realizar movimientos de zigzag desde el fondo hacia afuera.
- Se retiró el asa, se flameó la boca del vial, se tapó con su torunda de algodón y se esterilizó el asa.

Todo el procedimiento mencionado para el trasplante en medio de cultivo con agar inclinado o “pico de flauta” se realizó a una distancia no mayor de 10 cm de la llama de un mechero que se encontraba entre nuestro cuerpo y nuestras manos.

Luego de repetir el procedimiento descrito anteriormente para cada una de las placas de Petri se procedió a empaquetar

nuevamente los viales en su respectivo recipiente y se llevó a incubar con una temperatura de 37°C por 24 horas.

### **3.5.6. Identificación de *Candida albicans* a través de una tinción simple con azul de metileno**

Al día siguiente, cuando se cumplió las 24 horas de incubación de los viales con medio de cultivo inclinado o “pico de flauta” se procedió a retirarlos de la incubadora y se observó la presencia de colonias redondas, de color blanco-cremosas típico de *Candida albicans* y para confirmarlo se llevó a cabo el siguiente procedimiento:

- Se colocó una gota de agua en una lámina porta objeto.
- Se tomó el asa de Kolle y se esterilizó por calor al rojo vivo manteniéndolo casi verticalmente.
- Se quitó la torunda de algodón del vial, su boca fue flameada, se tocó con el asa una zona donde había solo agar para dejarlo enfriar, luego de ello se tomó una asada de una colonia aislada, la boca del vial fue flameada nuevamente y se tapó con su torunda de algodón.
- Con la punta del asa de Kolle se realizó un frotis sobre la gota de agua en lámina porta objeto y se fijó.

- Se le agregó unas gotas de azul de metileno sobre la zona del frotis y se dejó actuar por un minuto, lapso en el cual se tiñeron todas las células.
- Transcurrido el minuto se escurrió el exceso del colorante y se lavó con agua hasta que esta salga incolora.
- Se dejó secar el frotis teñido y luego de ello se llevó al microscopio para observarlo.
- Se localizó el campo con el objetivo de 10x y luego se afinó la imagen a 40x para observar levaduras.

Al microscopio se observó células redondas u ovaladas de tres a siete micras de diámetro, las cuales pudimos afirmar que eran células del género ***Candida***.

### **3.5.7. Identificación de *Candida albicans* a través de la prueba de tubo germinativo**

Luego de confirmar que nuestras cepas puras son del género ***Candida*** se procedió a demostrar que son de la especie ***albicans*** a través del siguiente procedimiento:

- Primero se tomó una muestra de sangre de mi persona que fue llevada a centrifugar a 4000 RPM por 10 minutos para obtener plasma humano.

- Se separó el plasma en un tubo de ensayo.
- Se tomó el asa de Kolle y fue esterilizado por calor al rojo vivo manteniéndolo casi verticalmente.
- Se quitó la torunda de algodón del vial, su boca fue flameada, se tocó con el asa una zona donde había solo agar para dejarlo enfriar, luego de ello se tomó una asada de una colonia aislada, la boca del vial fue flameada nuevamente y se tapó con su torunda de algodón.
- Se quitó la torunda de algodón del tubo de ensayo, su boca fue flameada, se colocó la punta en contacto con el suero humano y se realizó movimientos pendulares para así lograr un trasplante por suspensión, la boca del tubo fue flameada nuevamente, se tapó con su torunda de algodón y se llevó a incubar a 37°C por 3 horas.
- Transcurrido dicho tiempo se retiró el tubo de ensayo de la incubadora y se procedió a colocar 2 gotas de su contenido sobre una lámina porta objetos, seguidamente fue cubierta con un cubre objeto y se llevó al microscopio.
- Se localizó el campo con el objetivo de 10x y luego se afinó la imagen a 40x para observar levaduras.

Al microscopio se observó células con un filamento que se extendía desde ellas, con paredes paralelas, un ancho de aproximadamente la mitad del ancho de la célula progenitora y una longitud de aproximadamente 3 o 4 veces más extensa que esta; estas son características claves del tubo germinativo, el cual sólo la especie *albicans* puede producir, por lo que se confirmó que nuestras cepas puras eran de ***Candida albicans***.

### 3.5.8. Preparación de la cepa pura de *Candida albicans*

En la semana n.º 57, el día lunes primero se preparó Caldo BHI para luego verterlo en 4 tubos de ensayo de 15 mm x 150 mm; el volumen de Caldo BHI que se puso en cada tubo de ensayo fue de 10 ml por lo que se preparó un total de 40ml según las indicaciones del fabricante:

$$1000 \text{ ml} \longrightarrow 37 \text{ g}$$

$$40 \text{ ml} \longrightarrow X \text{ g}$$

$$X = 1,48 \text{ g}$$

Se pesó la cantidad de Caldo BHI obtenida en el cálculo anterior sobre un pedazo de papel aluminio en una balanza analítica y después se procedió a prepararlo y esterilizarlo con las mismas indicaciones anteriormente descritas.

Cuando terminó el proceso de esterilizado, se esperó a que enfrié y se realizó un trasplante por suspensión siguiendo el protocolo descrito por Mendo Rubio, 1995(39):

- Primero se tomó el asa de Kolle y fue esterilizado por calor al rojo vivo manteniéndolo casi verticalmente.
- Se tomó el vial con la cepa pura de ***Candida albicans***, se le quitó la torunda de algodón, su boca fue flameada, se tocó con el asa una zona donde había solo agar para dejarlo enfriar, luego de ello se tomó una asada de una colonia aislada, la boca del vial fue flameada nuevamente y se tapó con su torunda de algodón.
- Se quitó la torunda de algodón del tubo de ensayo con Caldo BHI, su boca fue flameada, se colocó la punta en contacto con el contenido y se realizó movimientos pendulares para así lograr un trasplante por suspensión, la boca del tubo fue flameada nuevamente y se tapó con su torunda de algodón.
- Se realizó el procedimiento en los 4 tubos de ensayo con Caldo BHI preparados anteriormente.
- Luego se procedió a marcar los tubos con las concentraciones determinadas del extracto etanólico de

***Caesalpinia spinosa***, se empaquetaron en un recipiente más grande y fueron llevados a incubar a 37°C por 24 horas. Cabe resaltar que para estandarizar las cepas de ***Candida albicans*** se tomó las asadas de un mismo vial, el cual contenía la cepa que creció en mayor cantidad y en el menor tiempo, demostrando así ser probablemente la más agresiva.

El día martes en horas de la mañana se preparó PDA para verterlo en 4 viales de vidrio y así obtener medio de cultivo con agar inclinado o “pico de flauta”; el volumen de PDA que se vertió en cada vial fue de 7 ml por lo que se preparó un total de 28 ml según las indicaciones del fabricante:

$$1000 \text{ ml} \longrightarrow 42 \text{ g}$$

$$28 \text{ ml} \longrightarrow X \text{ g}$$

$$X = 1,176 \text{ g}$$

Se pesó la cantidad de PDA obtenida en el cálculo anterior sobre un pedazo de papel aluminio en una balanza analítica y después se procedió a prepararlo y esterilizarlo con las mismas indicaciones anteriormente descritas.

Después del proceso de esterilizado se marcó cada vial con las concentraciones determinadas del extracto etanólico de ***Caesalpinia spinosa***.

Cuando transcurrieron las 24 horas de incubación de los tubos de ensayo se procedió a retirarlos de la incubadora y se observó la turbidez que presentaron, luego se realizó un trasplante en medio de cultivo con agar inclinado o “pico de flauta” siguiendo el protocolo descrito por Mendo Rubio, el cual fue detallado anteriormente.

Luego de repetir dicho procedimiento para cada uno de los tubos de ensayo, se procedió a empaquetar nuevamente los viales en su respectivo recipiente y se llevó a incubar con una temperatura de 37°C por 24 horas.

### **3.5.9. Preparación de los discos de sensibilidad antifúngica**

Se utilizaron discos de sensibilidad antifúngica de Nistatina 5µg de la marca E.M.V.; por lo que para poder impregnar 96 discos con el extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* fue necesario desnaturalizar el antimicótico que contenían estos mediante el siguiente procedimiento:

- Primero los discos fueron colocados en vasos beaker.
- Seguidamente se les agregó agua destilada.

- Luego fueron empaquetados y llevados a esterilizar en autoclave a 121°C con una presión de 15 psi y un tiempo de 15 minutos.
- Después de ser esterilizados en autoclave se procedió a quitar el agua y colocar los discos húmedos en las paredes de los vasos beaker con una pinza estéril.
- Posterior a ello se empaquetaron nuevamente y fueron llevados a esterilizar en una estufa a 180°C por 30 minutos.
- Finalmente, terminado el tiempo de esterilización en la estufa, se retiraron los vasos beaker con la seguridad de que los discos no contienen ninguna sustancia antifúngica.

#### **3.5.10. Preparación de las concentraciones del extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa***

El día miércoles se preparó las concentraciones que fueron de 12,5 mg/ml; 25 mg/ml; 50 mg/ml y 100 mg/ml; para prepararlas se pesó dichas cantidades en una balanza analítica y luego fueron disueltas en 1 ml de agua destilada estéril que fue vertida con una jeringa estéril en cada uno de los viales correspondientes. Para homogenizar la solución se utilizó un Vortexer de la marca VWR®.

Luego se pusieron a esterilizar 54 placas de Petri en una estufa a 180°C por 30 minutos.

### **3.5.11. Prueba de sensibilidad antifúngica por método de KIRBY-BAUER**

Primero se preparó Caldo BHI para luego verterlo en 4 tubos de ensayo de 15 mm x 150 mm; el volumen de Caldo BHI que se puso en cada tubo de ensayo fue de 10 ml por lo que se preparó un total de 40ml según las indicaciones del fabricante:

1000 ml      —————>      37 g

40 ml         —————>      X g

X = 1,48 g

Se pesó la cantidad de Caldo BHI obtenida en el cálculo anterior sobre un pedazo de papel aluminio en una balanza analítica y después se procedió a prepararlo y esterilizarlo con las mismas indicaciones anteriormente descritas.

Cuando terminó el proceso de esterilizado, se esperó a que enfríe y con los últimos viales que fueron incubados anteriormente se procedió a realizar un trasplante por suspensión siguiendo el protocolo descrito por Mendo Rubio, el cual fue detallado anteriormente.

Se marcó cada tubo con la concentración del extracto etanólico de ***Caesalpinia spinosa*** que le corresponde, se empaquetaron en un recipiente más grande y fueron llevados a incubar a 37°C por 2 horas hasta lograr una turbidez igual a la del tubo 0,5 de la escala de McFarland.

Mientras se esperaba dicho tiempo de incubación se procedió a preparar Mueller-Hinton Agar (MHA) de la marca ©Liofilchem® que después de su esterilización fue vertido en las 48 placas de Petri previamente esterilizadas, el volumen de MHA que se puso en cada placa de Petri fue de 15 ml por lo que se preparó un total de 720 ml según las indicaciones del fabricante:

$$1000 \text{ ml} \longrightarrow 38 \text{ g}$$

$$720 \text{ ml} \longrightarrow X \text{ g}$$

$$X = 27,36 \text{ g}$$

Se pesó la cantidad de MHA obtenida en el cálculo anterior sobre un pedazo de papel aluminio en una balanza analítica y después se procedió a preparar y esterilizar con las mismas indicaciones anteriores que se dieron para el preparado del Agar Papa Dextrosa (PDA).

Después del proceso de esterilizado se esperó a que enfríe hasta llegar a una temperatura aproximada de 45°C, según las indicaciones del fabricante, para poder ser vertido en 48 de las placas de Petri esterilizadas anteriormente y luego se esperó a que el medio solidifique en cada una de ellas; mientras tanto, se tomó las 6 placas de Petri restantes para preparar los discos de sensibilidad.

Cada disco puede almacenar hasta 30 µl de una sustancia, por lo que a los discos anteriormente esterilizados (discos sin antimicóticos) se les aplicó las distintas concentraciones del extracto etanólico de ***Caesalpinia spinosa*** anteriormente preparadas, quedando distribuidos de la siguiente manera:

- 1 placa contuvo 18 discos impregnados con el extracto etanólico a una concentración de 12,5 mg/ml.
- 1 placa contuvo 18 discos impregnados con el extracto etanólico a una concentración de 25 mg/ml.
- 1 placa contuvo 18 discos impregnados con el extracto etanólico a una concentración de 50 mg/ml.
- 1 placa contuvo 18 discos impregnados con el extracto etanólico a una concentración de 100 mg/ml.

- 1 placa contuvo 24 discos esterilizados (sin antimicóticos) utilizados como control negativo.
- 1 placa contuvo 24 discos de sensibilidad de Nistatina 5 µg utilizados como control positivo.

Luego de las 2 horas de incubación de los tubos de ensayo se procedió a retirarlos y se comparó su turbidez con la del tubo 0,5 de la escala de McFarland; al ser iguales se procedió a realizar una siembra por diseminación siguiendo el protocolo descrito por Mendo Rubio, 1995(39):

- Se separaron las 48 placas de Petri con MHA en 4 grupos de 12 placas cada uno.
- Con una micropipeta de 100µl-1000µl se procedió a extraer 100µl de Caldo BHI inoculado con una cepa pura de ***Candida albicans***.
- Se flameó la placa de Petri correspondiente, se abrió y se vertió la solución en el centro de la placa.
- Luego se sumergió un asa de Drigalsky en alcohol 70° y se pasó por la llama del mechero logrando así una esterilización por flameado.
- Seguidamente se colocó el asa sobre el MHA cerca a los bordes de la placa para controlar su temperatura, y una vez

enfriado se procedió a distribuir el inóculo por toda la superficie del medio.

Cabe resaltar que todo el procedimiento mencionado para la siembra por diseminación se realizó a una distancia no mayor de 10 cm de la llama de un mechero que se encontraba entre nuestro cuerpo y nuestras manos.

Luego de repetir el procedimiento descrito anteriormente para cada una de las 12 placas de Petri pertenecientes a un grupo se procedió a colocar los discos de la siguiente manera:

- 6 placas contuvieron 4 discos, 3 de ellos impregnados con el extracto etanólico a su concentración correspondiente y el otro restante fue un disco esterilizado (Control negativo).
- 6 placas contuvieron 1 disco de sensibilidad de Nistatina 5 µg (Control positivo).

Se realizó la misma distribución para cada uno de los 4 grupos; luego de ello se procedió a empaquetar las placas de Petri nuevamente con su respectiva envoltura y se llevó a incubar con una temperatura de 37°C por 24 horas.

El día jueves, pasadas las 24 horas se procedió a hacer la medición de los halos de inhibición con un vernier digital, se anotó cada uno de los datos en su ficha correspondiente donde

también fueron categorizados según la escala de Duraffourd y Lapraz (8) (ver ANEXO n.º 9) y finalmente fueron ordenados en una base de datos para su posterior análisis estadístico.

### **3.5.12. DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA (CMI)**

En la semana n.º 58, el día lunes primero se preparó Caldo BHI para luego verterlo en 1 tubo de ensayo de 15 mm x 150 mm; el volumen de Caldo BHI que se puso en el tubo de ensayo fue de 10 ml y se preparó según las indicaciones del fabricante:

1000 ml       $\longrightarrow$       37 g

10 ml         $\longrightarrow$       X g

X = 0,37 g

Se pesó la cantidad de Caldo BHI obtenida en el cálculo anterior sobre un pedazo de papel aluminio en una balanza analítica y después se procedió a prepararlo y esterilizarlo con las mismas indicaciones anteriormente descritas.

Cuando terminó el proceso de esterilizado, se esperó a que enfríe y se realizó un trasplante por suspensión siguiendo el protocolo descrito por Mendo Rubio, el cual fue detallado anteriormente, y luego se llevó a incubar a 37°C por 24 horas.

El día martes en horas de la mañana se preparó PDA para verterlo en 1 vial de vidrio y así obtener medio de cultivo con agar inclinado o “pico de flauta”; el volumen de PDA que se vertió en el vial fue de 7 ml y se preparó según las indicaciones del fabricante:

$$\begin{array}{rcl} 1000 \text{ ml} & \longrightarrow & 42 \text{ g} \\ 7 \text{ ml} & \longrightarrow & X \text{ g} \\ & & X = 0,294 \text{ g} \end{array}$$

Se pesó la cantidad de PDA obtenida en el cálculo anterior sobre un pedazo de papel aluminio en una balanza analítica y después se procedió a preparar y esterilizar el medio de cultivo con las mismas indicaciones anteriormente descritas.

Cuando transcurrieron las 24 horas de incubación del tubo de ensayo se procedió a retirarlo de la incubadora y se observó la turbidez que presentó, luego se realizó un trasplante en medio de cultivo con agar inclinado o “pico de flauta” siguiendo el protocolo descrito por Mendo Rubio, el cual fue detallado anteriormente, y luego se llevó a incubar a 37°C por 24 horas.

El día miércoles lo primero que se hizo fue preparar Caldo BHI para luego verterlo en 1 tubo de ensayo de 15 mm x 150 mm;

el volumen de Caldo BHI que se puso en el tubo de ensayo fue de 10 ml y se preparó según las indicaciones del fabricante:

$$\begin{array}{lcl} 1000 \text{ ml} & \longrightarrow & 37 \text{ g} \\ 10 \text{ ml} & \longrightarrow & X \text{ g} \\ & & X = 0,37 \text{ g} \end{array}$$

Se pesó la cantidad de Caldo BHI obtenida en el cálculo anterior sobre un pedazo de papel aluminio en una balanza analítica y después se procedió a prepararlo con las mismas indicaciones anteriormente descritas.

Después se preparó una solución madre a partir de la cual se obtuvo pequeñas concentraciones del extracto etanólico de ***Caesalpinia spinosa*** suspendido en Caldo BHI. Se determinó que la concentración de la solución madre debía ser de 45 mg/ml y se debería preparar un total de 100 ml, por lo que se realizó primero la preparación del Caldo BHI:

$$\begin{array}{lcl} 1000 \text{ ml} & \longrightarrow & 37 \text{ g} \\ 100 \text{ ml} & \longrightarrow & X \text{ g} \\ & & X = 3,7 \text{ g} \end{array}$$

Se pesó la cantidad de Caldo BHI obtenida en el cálculo anterior sobre un pedazo de papel aluminio en una balanza

analítica y después se procedió a prepararlo con las mismas indicaciones anteriormente descritas.

Luego de ello se preparó Caldo BHI para luego verterlo en 23 tubos de ensayo de 13 mm x 100 mm; el volumen de Caldo BHI que se puso en cada tubo de ensayo fue previamente calculado (ver ANEXO n.º 8) por lo que se preparó un total de 60 ml según las indicaciones del fabricante:

$$\begin{array}{rcl} 1000 \text{ ml} & \longrightarrow & 37 \text{ g} \\ 60 \text{ ml} & \longrightarrow & X \text{ g} \\ & & X = 2,22 \text{ g} \end{array}$$

Se pesó la cantidad de Caldo BHI obtenida en el cálculo anterior sobre un pedazo de papel aluminio en una balanza analítica y después se procedió a prepararlo con las mismas indicaciones anteriormente descritas.

Luego se vertió la solución en los tubos según lo calculado previamente, fueron marcados con su código correspondiente, se colocaron en un recipiente más grande, fueron empaquetados y finalmente se llevaron a esterilizar junto con el tubo de ensayo de 15 mm x 150 mm y el matraz que contiene el Caldo BHI destinado para la solución madre a una

temperatura de 121°C con una presión de 15 psi y un tiempo de 15 minutos según las indicaciones del fabricante.

Cuando terminó el proceso de esterilizado, se esperó a que enfríe y transcurridas las 24 horas de incubación del vial se procedió a retirarlo de la incubadora para realizar un trasplante por suspensión siguiendo el protocolo descrito por Mendo Rubio, el cual fue detallado anteriormente, y luego se llevó a incubar a 37°C por 2 horas.

Mientras se esperaba dicho tiempo de incubación se procedió a calcular la cantidad de extracto etanólico de ***Caesalpinia spinosa*** necesario para tener una concentración de 45mg/ml en la solución madre.

$$\begin{array}{l} 1 \text{ ml} \quad \longrightarrow \quad 45 \text{ mg} \\ 100 \text{ ml} \quad \longrightarrow \quad X \text{ mg} \end{array}$$

$$X = 4500 \text{ mg} = 4,5 \text{ g}$$

Se pesó la cantidad requerida de extracto etanólico y se procedió a mezclarlos con ayuda de un vortexer para tener una solución homogénea.

Luego de las 2 horas de incubación del tubo de ensayo se procedió a retirarlo de la incubadora y se comparó su turbidez con la del tubo 0,5 de la escala de McFarland; al ser iguales se procedió a verter 300  $\mu\text{l}$  de su contenido, con una micropipeta de 100  $\mu\text{l}$  – 1000  $\mu\text{l}$ , a cada uno de los tubos correspondientes según lo planificado.

De igual manera se procedió luego a verter los volúmenes de la solución madre a cada uno de los tubos correspondientes según lo planificado con micropipetas de 1  $\mu\text{l}$  – 10  $\mu\text{l}$ , 10  $\mu\text{l}$  – 100  $\mu\text{l}$  y 100  $\mu\text{l}$  – 1000  $\mu\text{l}$  según se necesite.

Luego de haber preparado cada uno de los 23 tubos según lo planificado (ver ANEXO n.º 8) se procedió a empaquetarlos en su respectivo recipiente y fueron llevados a incubación a 37°C por 24 horas.

El día jueves se llevó a esterilizar 4 placas de Petri en una estufa a 180°C por 30 minutos.

Cuando transcurrieron las 24 horas de incubación se procedió a hacer lectura de los resultados, obteniendo como Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) a la concentración presente en el tubo a partir del cual no se presenta turbidez, es decir, su contenido tiene un aspecto cristalino; dicho tubo fue el n.º 11 y le corresponde una concentración de 9 mg/ml.

### **3.5.13. Determinación de la concentración mínima fungicida (CMF)**

El mismo día jueves, en horas de la mañana se procedió a preparar Mueller-Hinton Agar (MHA) que después de su esterilización fue vertido en las 4 placas de Petri previamente esterilizadas, el volumen de MHA que se puso en cada placa de Petri fue de 15 ml por lo que se preparó un total de 60 ml según las indicaciones del fabricante:

$$\begin{array}{l} 1000 \text{ ml} \quad \longrightarrow \quad 38 \text{ g} \\ 60 \text{ ml} \quad \longrightarrow \quad X \text{ g} \\ X = 2,28 \text{ g} \end{array}$$

Se pesó dicha cantidad de MHA sobre un pedazo de papel aluminio en una balanza analítica y se procedió a preparar y esterilizar con las indicaciones anteriormente descritas.

Después del proceso de esterilizado se esperó a que enfríe hasta llegar a una temperatura de 45°C para poder ser vertido en las 4 placas de Petri esterilizadas anteriormente y luego se esperó a que el medio solidifique en cada una de ellas.

Luego se tomó los tubos n.º 11, 12, 13 y se procedió a realizar siembras por disseminación siguiendo el protocolo descrito por Mendo Rubio, el cual fue detallado anteriormente, y luego se llevó a incubar a 37°C por 24 horas.

El día viernes, cuando transcurrieron las 24 horas de incubación se procedió a hacer lectura de los resultados, obteniendo como Concentración Mínima Fungicida (CMF) a la concentración presente en el tubo a partir del cual se realizó una siembra por disseminación y se obtuvo  $\leq 1$  UFC/placa; dicho tubo fue el n.º 13 y le corresponde una concentración de 9,8 mg/ml.

### **3.6. PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE DATOS**

Se realizó una exhaustiva revisión de cada una de las fichas llenadas por el investigador para verificar la concordancia entre los datos obtenidos y los datos llenados, evitando así cualquier tipo de error.

Luego se procedió a digitar en el programa Microsoft Excel 2016 todos los datos obtenidos y se agruparon según la concentración del extracto etanólico, creando así una base de datos general lista para su análisis estadístico mediante estadística descriptiva e inferencial en los programas InfoStat Estudiantil e IBM SPSS Statistics 25.

La estadística descriptiva fue llevada a cabo a través de medidas de tendencia central (como son la media aritmética y la mediana) y medidas de dispersión (como son análisis de varianza, valor máximo, valor mínimo y el rango entre ellos).

Para elegir la prueba estadística inferencial fue necesario primero analizar 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 la variable se decidió realizar una prueba estadística inferencial paramétrica.

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

## CAPÍTULO IV

### RESULTADOS

TABLA Nº 1

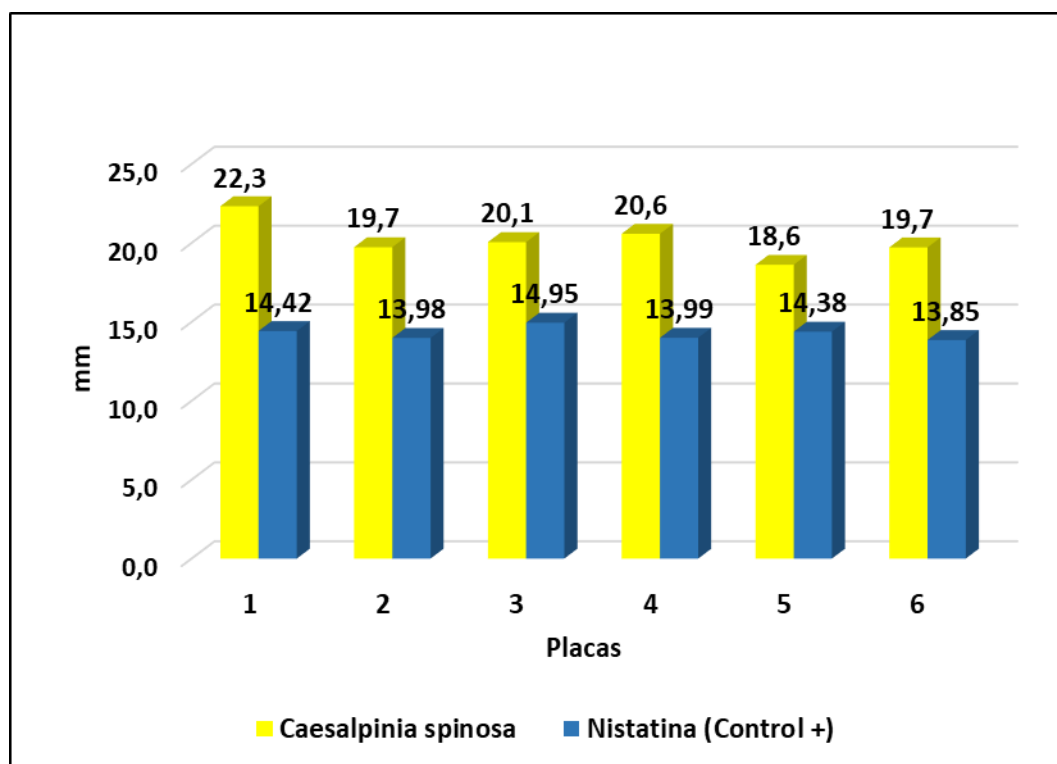
PROMEDIO DE HALOS DE INHIBICIÓN EN MILÍMETROS (mm) DEL  
EXTRACTO ETANÓLICO DE *Caesalpinia spinosa* (TARA) A UNA  
CONCENTRACIÓN DE 12,5 mg/ml

Grupo	Disco 1	Disco 2	Disco 3	Promedio	Control +
1	22,05	22,22	22,71	22,3	14,42
2	19,62	19,42	20,16	19,7	13,98
3	20,61	20,09	19,46	20,1	14,95
4	21,08	21,55	19,12	20,6	13,99
5	18,19	18,5	19,16	18,6	14,38
6	20,49	19,56	19,11	19,7	13,85
<b>PROMEDIO GENERAL</b>				20,17	14,26

Fuente: Datos obtenidos por el investigador

GRÁFICO N° 01

PROMEDIO DE HALOS DE INHIBICIÓN EN MILÍMETROS (mm) DEL  
EXTRACTO ETANÓLICO DE *Caesalpinia spinosa* (TARA) A UNA  
CONCENTRACIÓN DE 12,5 mg/ml



Fuente: Tabla N° 01

## INTERPRETACIÓN

En la TABLA y GRÁFICO N° 01 se puede apreciar que el tamaño de los halos de inhibición obtenidos con el extracto etanólico de ***Caesalpinia spinosa*** a una concentración de 12,5 mg/ml son mayores a los obtenidos con el grupo control positivo (Nistatina) en todos los grupos.

Se obtuvo una mediana de 19,86 mm para los halos de inhibición obtenidos con el extracto etanólico de ***Caesalpinia spinosa*** a una concentración de 12,5 mg/ml; mientras que para el grupo control positivo (Nistatina) se obtuvo una mediana de 14,19 mm.

Se obtuvo un promedio general de 20,17 mm para los halos de inhibición obtenidos con el extracto etanólico de ***Caesalpinia spinosa*** a una concentración de 12,5 mg/ml; mientras que para el grupo control positivo (Nistatina) se obtuvo un promedio general de 14,26 mm.

El valor mínimo para los halos de inhibición obtenidos con el extracto etanólico de ***Caesalpinia spinosa*** a una concentración de 12,5 mg/ml fue de 18,19 mm; mientras que el valor máximo fue de 22,71 mm; teniendo entonces un rango de 4,52 mm de diferencia.

El valor mínimo para los halos de inhibición obtenidos con el grupo control positivo (Nistatina) fue de 13,85 mm; mientras que el valor máximo fue de 14,95 mm; teniendo entonces un rango de 1,10 mm de diferencia.

**TABLA Nº 02**

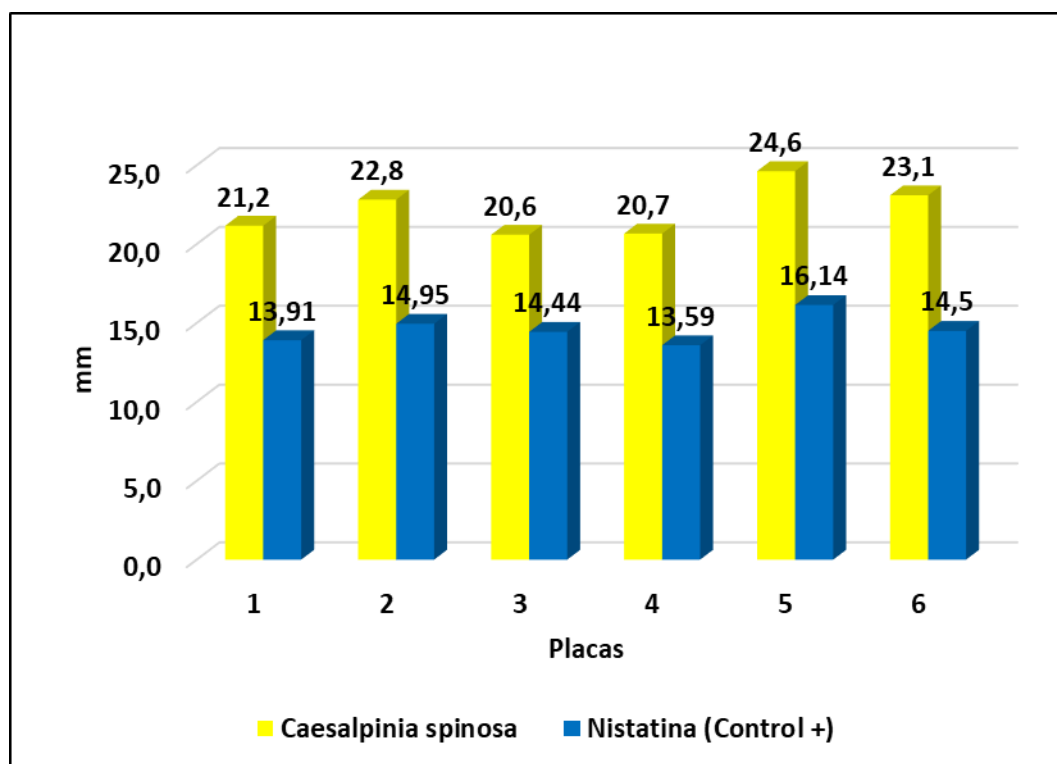
**PROMEDIO DE HALOS DE INHIBICIÓN EN MILÍMETROS (mm) DEL  
EXTRACTO ETANÓLICO DE *Caesalpinia spinosa* (TARA) A UNA  
CONCENTRACIÓN DE 25 mg/ml**

<b>Grupo</b>	<b>Disco 1</b>	<b>Disco 2</b>	<b>Disco 3</b>	<b>Promedio</b>	<b>Control +</b>
<b>1</b>	21,65	21,03	20,83	21,2	13,91
<b>2</b>	24,27	22,55	21,65	22,8	14,95
<b>3</b>	20,2	20,81	20,78	20,6	14,44
<b>4</b>	20,18	20,51	21,32	20,7	13,59
<b>5</b>	25,14	24,65	24,09	24,6	16,14
<b>6</b>	23,15	23,39	22,75	23,1	14,5
<b>PROMEDIO GENERAL</b>				22,16	14,59

Fuente: Datos obtenidos por el investigador

## GRÁFICO N° 02

PROMEDIO DE HALOS DE INHIBICIÓN EN MILÍMETROS (mm) DEL  
EXTRACTO ETANÓLICO DE *Caesalpinia spinosa* (TARA) A UNA  
CONCENTRACIÓN DE 25 mg/ml



Fuente: Tabla N° 02

## INTERPRETACIÓN

En la TABLA y GRÁFICO N° 02 se puede apreciar que el tamaño de los halos de inhibición obtenidos con el extracto etanólico de ***Caesalpinia spinosa*** a una concentración de 25 mg/ml son mayores a los obtenidos con el grupo control positivo (Nistatina) en todos los grupos.

Se obtuvo una mediana de 21,65 mm para los halos de inhibición obtenidos con el extracto etanólico de ***Caesalpinia spinosa*** a una concentración de 25 mg/ml; mientras que para el grupo control positivo (Nistatina) se obtuvo una mediana de 14,47 mm.

Se obtuvo un promedio general de 22,16 mm para los halos de inhibición obtenidos con el extracto etanólico de ***Caesalpinia spinosa*** a una concentración de 25 mg/ml; mientras que para el grupo control positivo (Nistatina) se obtuvo un promedio general de 14,59 mm.

El valor mínimo para los halos de inhibición obtenidos con el extracto etanólico de ***Caesalpinia spinosa*** a una concentración de 25 mg/ml fue de 20,18 mm; mientras que el valor máximo fue de 25,14 mm; teniendo entonces un rango de 4,96 mm de diferencia.

El valor mínimo para los halos de inhibición obtenidos con el grupo control positivo (Nistatina) fue de 13,59 mm; mientras que el valor máximo fue de 16,14 mm; teniendo entonces un rango de 2,55 mm de diferencia.

**TABLA N° 03**

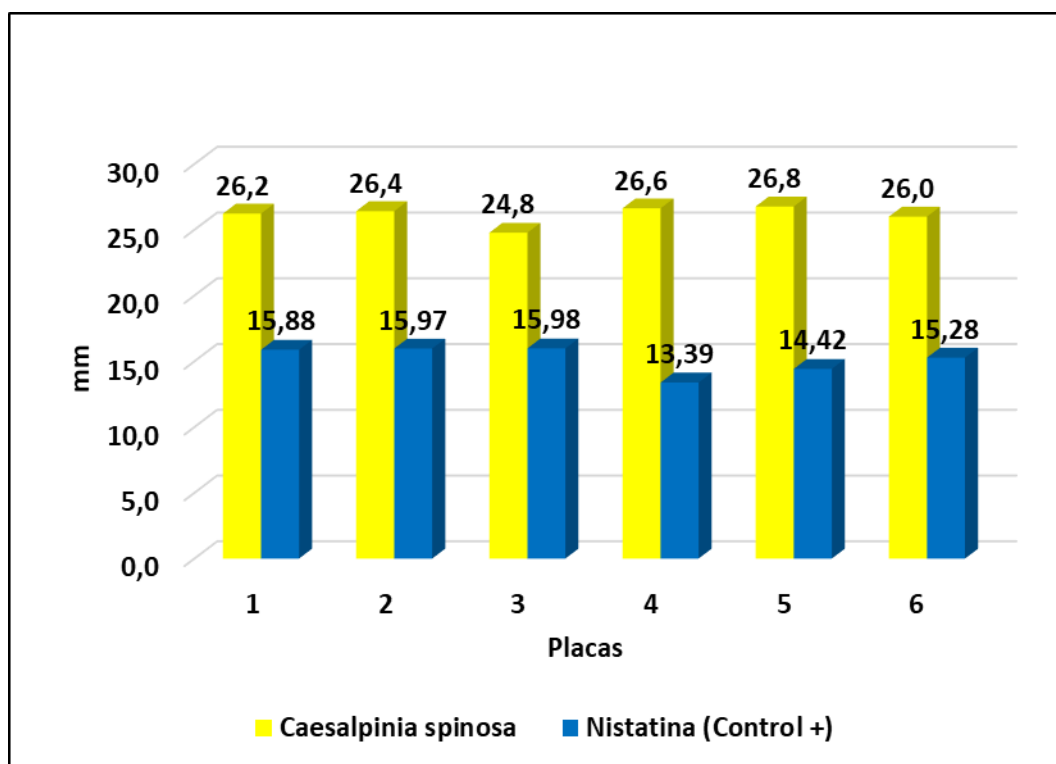
**PROMEDIO DE HALOS DE INHIBICIÓN EN MILÍMETROS (mm) DEL  
EXTRACTO ETANÓLICO DE *Caesalpinia spinosa* (TARA) A UNA  
CONCENTRACIÓN DE 50 mg/ml**

<b>Grupo</b>	<b>Disco 1</b>	<b>Disco 2</b>	<b>Disco 3</b>	<b>Promedio</b>	<b>Control +</b>
<b>1</b>	26,15	26,04	26,52	26,2	15,88
<b>2</b>	26,1	26,39	26,76	26,4	15,97
<b>3</b>	24,01	25	25,32	24,8	15,98
<b>4</b>	26,26	26,49	27,14	26,6	13,39
<b>5</b>	26,59	26,78	26,95	26,8	14,42
<b>6</b>	24,68	25,74	27,58	26,0	15,28
<b>PROMEDIO GENERAL</b>				26,14	15,15

Fuente: Datos obtenidos por el investigador

### GRÁFICO N° 03

PROMEDIO DE HALOS DE INHIBICIÓN EN MILÍMETROS (mm) DEL  
EXTRACTO ETANÓLICO DE *Caesalpinia spinosa* (TARA) A UNA  
CONCENTRACIÓN DE 50 mg/ml



Fuente: Tabla N° 03

## INTERPRETACIÓN

En la TABLA y GRÁFICO N° 03 se puede apreciar que el tamaño de los halos de inhibición obtenidos con el extracto etanólico de ***Caesalpinia spinosa*** a una concentración de 50 mg/ml son mayores a los obtenidos con el grupo control positivo (Nistatina) en todos los grupos.

Se obtuvo una mediana de 26,33 mm para los halos de inhibición obtenidos con el extracto etanólico de ***Caesalpinia spinosa*** a una concentración de 50 mg/ml; mientras que para el grupo control positivo (Nistatina) se obtuvo una mediana de 15,58 mm.

Se obtuvo un promedio general de 26,14 mm para los halos de inhibición obtenidos con el extracto etanólico de ***Caesalpinia spinosa*** a una concentración de 50 mg/ml; mientras que para el grupo control positivo (Nistatina) se obtuvo un promedio general de 15,15 mm.

El valor mínimo para los halos de inhibición obtenidos con el extracto etanólico de ***Caesalpinia spinosa*** a una concentración de 50 mg/ml fue de 24,01 mm; mientras que el valor máximo fue de 27,58 mm; teniendo entonces un rango de 3,57 mm de diferencia.

El valor mínimo para los halos de inhibición obtenidos con el grupo control positivo (Nistatina) fue de 13,39 mm; mientras que el valor máximo fue de 15,98 mm; teniendo entonces un rango de 2,59 mm de diferencia.

**TABLA N° 04**

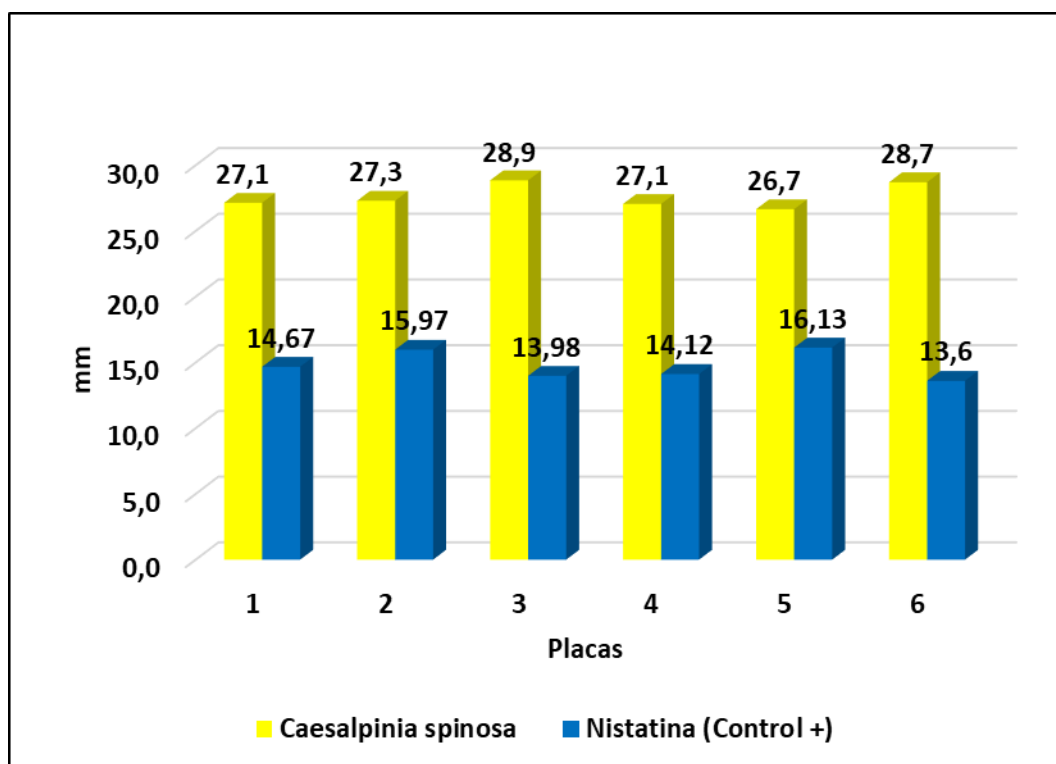
**PROMEDIO DE HALOS DE INHIBICIÓN EN MILÍMETROS (mm) DEL  
EXTRACTO ETANÓLICO DE *Caesalpinia spinosa* (TARA) A UNA  
CONCENTRACIÓN DE 100 mg/ml**

<b>Grupo</b>	<b>Disco 1</b>	<b>Disco 2</b>	<b>Disco 3</b>	<b>Promedio</b>	<b>Control +</b>
<b>1</b>	27,13	27,31	26,99	27,1	14,67
<b>2</b>	26,73	27,42	27,75	27,3	15,97
<b>3</b>	29,18	29,5	27,88	28,9	13,98
<b>4</b>	27,64	26,11	27,42	27,1	14,12
<b>5</b>	24,82	27,41	27,74	26,7	16,13
<b>6</b>	29,56	28,43	28,13	28,7	13,6
<b>PROMEDIO GENERAL</b>				27,71	14,75

Fuente: Datos obtenidos por el investigador

GRÁFICO N° 04

PROMEDIO DE HALOS DE INHIBICIÓN EN MILÍMETROS (mm) DEL  
EXTRACTO ETANÓLICO DE *Caesalpinia spinosa* (TARA) A UNA  
CONCENTRACIÓN DE 100 mg/ml



Fuente: Tabla N° 04

## INTERPRETACIÓN

En la TABLA y GRÁFICO N° 04 se puede apreciar que el tamaño de los halos de inhibición obtenidos con el extracto etanólico de ***Caesalpinia spinosa*** a una concentración de 100 mg/ml son mayores a los obtenidos con el grupo control positivo (Nistatina) en todos los grupos.

Se obtuvo una mediana de 27,64 mm para los halos de inhibición obtenidos con el extracto etanólico de ***Caesalpinia spinosa*** a una concentración de 100 mg/ml; mientras que para el grupo control positivo (Nistatina) se obtuvo una mediana de 14,40 mm.

Se obtuvo un promedio general de 27,71 mm para los halos de inhibición obtenidos con el extracto etanólico de ***Caesalpinia spinosa*** a una concentración de 100 mg/ml; mientras que para el grupo control positivo (Nistatina) se obtuvo un promedio general de 14,75 mm.

El valor mínimo para los halos de inhibición obtenidos con el extracto etanólico de ***Caesalpinia spinosa*** a una concentración de 100 mg/ml fue de 24,82 mm; mientras que el valor máximo fue de 29,56 mm; teniendo entonces un rango de 4,74 mm de diferencia.

El valor mínimo para los halos de inhibición obtenidos con el grupo control positivo (Nistatina) fue de 13,60 mm; mientras que el valor máximo fue de 16,13 mm; teniendo entonces un rango de 2,53 mm de diferencia.

TABLA Nº 05

GRADO DE SENSIBILIDAD DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE  
*Caesalpinia spinosa* (TARA) SEGÚN ESCALA DE SENSIBILIDAD  
 DE DURAFFOURD Y LAPRAZ

Tratamiento	Medias	Grado de sensibilidad
<i>Caesalpinia spinosa</i> 100 mg/ml	27,71 mm	Sumamente sensible (+++)
<i>Caesalpinia spinosa</i> 50 mg/ml	26,14 mm	Sumamente sensible (+++)
<i>Caesalpinia spinosa</i> 25 mg/ml	22,16 mm	Sumamente sensible (+++)
<i>Caesalpinia spinosa</i> 12,5 mg/ml	20,17 mm	Sumamente sensible (+++)
Nistatina	14,69 mm	Muy sensible (++)

Fuente: Datos obtenidos por el investigador

### INTERPRETACIÓN

En la TABLA Nº 05 se puede apreciar que todas las concentraciones del extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* que se prepararon obtuvieron medias de más de 20 mm por lo cual podemos afirmar que las cepas de *Candida albicans* utilizadas en la presente investigación son “sumamente sensibles” a dicho extracto; por lo que demostraron tener una mayor efectividad que la Nistatina, frente a quien son “muy sensibles”.

## ELECCIÓN DE LA PRUEBA PARA EL CONTRASTE DE HIPÓTESIS

TABLA Nº 06

### ANÁLISIS DE DISTRIBUCIÓN DE DATOS (PRUEBA DE NORMALIDAD DE KOLMOGOROV-SMIRNOV Y SHAPIRO-WILK)

Pruebas de normalidad						
	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
V1	0,196	6	0,200*	0,932	6	0,594
V2	0,247	6	0,200*	0,896	6	0,351
V3	0,228	6	0,200*	0,901	6	0,379
V4	0,206	6	0,200*	0,932	6	0,595
V5	0,259	6	0,200*	0,855	6	0,174
V6	0,255	6	0,200*	0,837	6	0,123
V7	0,307	6	0,080	0,824	6	0,096
V8	0,221	6	0,200*	0,874	6	0,241

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

a. Corrección de significación de Lilliefors

Fuente: Datos obtenidos por el investigador

## **INTERPRETACIÓN**

En la TABLA N° 06 se puede apreciar la aplicación de una prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov y Shapiro-Wilk para determinar si la distribución de los datos recolectados es normal.

### **1. PLANTEAMIENTO DE LA HIPÓTESIS:**

**Hipótesis nula (Ho):** Los datos presentan una distribución normal.

**Hipótesis alterna (Ha):** Los datos no presentan una distribución normal.

### **2. REGLA DE DECISIÓN**

Si  $p\text{-valor} > 0,05$ : No se rechaza Ho.

Si  $p\text{-valor} < 0,05$ : Se rechaza Ho.

### **3. DECISIÓN**

No se rechaza la Hipótesis Nula (Ho) debido a que el  $p\text{-valor} > 0,05$ .

### **4. CONCLUSIÓN**

Los datos recolectados presentan una distribución normal, entonces debemos realizar la prueba de Levene para confirmar si podemos aplicar una prueba estadística inferencial paramétrica.

**TABLA Nº 07**

**ANÁLISIS DE IGUALDAD DE VARIANZAS (PRUEBA DE LEVENE)**

Prueba de homogeneidad de varianza				
VAR00015	Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
Se basa en la media	1,908	7	40	0,094
Se basa en la mediana	1,269	7	40	0,290
Se basa en la mediana y con gl ajustado	1,269	7	32,920	0,296
Se basa en la media recortada	1,827	7	40	0,109

Fuente: Datos obtenidos por el investigador

## **INTERPRETACIÓN**

En la TABLA N° 07 se puede apreciar la aplicación de un análisis de igualdad de varianzas a través de la prueba de Levene para determinar si las varianzas son iguales o diferentes.

### **1. PLANTEAMIENTO DE LA HIPÓTESIS:**

**Hipótesis nula (Ho):** Las varianzas son iguales.

**Hipótesis alterna (Ha):** No todas las varianzas son iguales.

### **2. REGLA DE DECISIÓN**

Si  $p\text{-valor} > 0,05$ : No se rechaza Ho.

Si  $p\text{-valor} < 0,05$ : Se rechaza Ho.

### **3. DECISIÓN**

No se rechaza la Hipótesis Nula (Ho) debido a que el  $p\text{-valor} > 0,05$ .

### **4. CONCLUSIÓN**

Los datos recolectados tienen varianzas iguales; entonces si los datos presentan distribución normal y varianzas iguales, podemos aplicar una prueba estadística inferencial paramétrica para contrastar la hipótesis.

## APLICACIÓN DE LA PRUEBA PARA EL CONTRASTE DE HIPÓTESIS

TABLA Nº 08

### ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LOS FACTORES CONCENTRACIÓN Y TRATAMIENTO (PRUEBA DE ANOVA DE DOS FACTORES)

Fuente de variación	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrado Medio	F calculada	p-valor
<b>Concentración</b>	126,75	3	42,25	39,02	0,0001
<b>Tratamiento</b>	1046,36	1	1046,36	966,46	0,0001
<b>Concentración* Tratamiento</b>	90,55	3	30,18	27,88	0,0001
<b>Error</b>	43,31	40	1,08		
<b>Total</b>	1306,97	47			

Fuente: Datos obtenidos por el investigador

## INTERPRETACIÓN

En la TABLA N° 08 se puede apreciar la aplicación de una prueba de ANOVA de dos factores y seis repeticiones, los factores de estudio son:

**Factor A: Concentración**, el cual se refiere a los grupos de datos que fueron categorizados según las concentraciones preparadas de *Caesalpinia spinosa* (mg/ml), que a su vez presenta cuatro niveles, los cuales son 12,5 mg/ml; 25 mg/ml; 50 mg/ml y 100 mg/ml.

**Factor B: Tratamiento**, el cual se refiere al tratamiento utilizado; que a su vez presenta dos niveles, los cuales son *Caesalpinia spinosa* y Nistatina.

Por lo tanto, el diseño fue un experimento factorial de 4x2 y seis repeticiones.

Se observó significancia estadística para el **Factor A: Concentración** por ser  $p=0,0001$  menor que  $\alpha=0,05$ .

Se observó significancia estadística para el **Factor B: Tratamiento** por ser  $p=0,0001$  menor que  $\alpha=0,05$ .

Se observó significancia estadística para el **Factor A\*B: Concentración\*Tratamiento** por ser  $p=0,0001$  menor que  $\alpha=0,05$ .

## 1. PLANTEAMIENTO DE LA HIPÓTESIS:

**Hipótesis nula (Ho):** No existe diferencia significativa entre el efecto antifúngico in vitro del extracto etanólico obtenido de vainas de *Caesalpinia spinosa* (Tara) comparado con Nistatina, sobre un cultivo de *Candida albicans* obtenido de pacientes con diagnóstico de Estomatitis Subprótesis que acuden al Centro de Salud Ciudad Nueva de Tacna en el año 2020.

**Hipótesis alterna (Ha):** Existe diferencia significativa entre el efecto antifúngico in vitro del extracto etanólico obtenido de vainas de *Caesalpinia spinosa* (Tara) comparado con Nistatina, sobre un cultivo de *Candida albicans* obtenido de pacientes con diagnóstico de Estomatitis Subprótesis que acuden al Centro de Salud Ciudad Nueva de Tacna en el año 2020.

## 2. REGLA DE DECISIÓN

Si p-valor > 0,05: No se rechaza Ho.

Si p-valor < 0,05: Se rechaza Ho.

## 3. DECISIÓN

Se rechaza la Hipótesis Nula (Ho) debido a que el p-valor < 0,05.

#### 4. CONCLUSIÓN

Existe diferencia significativa entre el efecto antifúngico in vitro del extracto etanólico obtenido de vainas de ***Caesalpinia spinosa*** (Tara) comparado con Nistatina, sobre un cultivo de ***Candida albicans*** obtenido de pacientes con diagnóstico de Estomatitis Subprótesis que acuden al Centro de Salud Ciudad Nueva de Tacna en el año 2020.

**TABLA N° 09**

**PRUEBA DE COMPARACIONES MÚLTIPLES DE TUCKEY CON UNA  
CONFIANZA DEL 95% PARA EL FACTOR A: CONCENTRACIÓN**

<b>Concentración</b>	<b>Medias</b>	<b>n</b>	
<b>100 mg/ml</b>	21,19	12	A
<b>50 mg/ml</b>	20,64	12	A
<b>25 mg/ml</b>	18,38	12	B
<b>12,5 mg/ml</b>	17,21	12	C

Fuente: Datos obtenidos por el investigador

**INTERPRETACIÓN**

En la TABLA n.º 9 se puede apreciar la aplicación de la prueba de comparaciones múltiples de Tuckey la cual dio como resultado que no hay diferencia significativa entre el grupo de **100 mg/ml** y el grupo de **50 mg/ml**; sin embargo, sí presentan diferencia significativa frente a las demás concentraciones, así como también existe diferencia significativa entre los grupos de **12,5 mg/ml** y **25 mg/ml**.

TABLA N° 10

PRUEBA DE COMPARACIONES MÚLTIPLES DE TUCKEY CON UNA  
CONFIANZA DEL 95% PARA EL FACTOR B: TRATAMIENTO

Tratamiento	Medias	n	
<i>Caesalpinia spinosa</i>	24,05	12	A
Nistatina	14,69	12	B

Fuente: Datos obtenidos por el investigador

### INTERPRETACIÓN

En la TABLA n.º 10 se puede apreciar la aplicación de la prueba de comparaciones múltiples de Tuckey la cual dio como resultado que sí hay diferencia significativa entre ambos tratamientos.

Asimismo, se puede apreciar que la media de los halos de inhibición producidos por *Caesalpinia spinosa* fue mayor a la media de los halos de inhibición producidos por Nistatina, es decir, el efecto antifúngico del extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* fue mayor al efecto antifúngico producido por Nistatina.

TABLA Nº 11

PRUEBA DE COMPARACIONES MÚLTIPLES DE TUCKEY CON UNA  
 CONFIANZA DEL 95% PARA EL FACTOR A: CONCENTRACIÓN Y  
 FACTOR B: TRATAMIENTO

Concentración	Tratamiento	Medias	N	
100 mg/ml	<i>Caesalpinia spinosa</i>	27,71	6	A
50 mg/ml	<i>Caesalpinia spinosa</i>	26,14	6	A
25 mg/ml	<i>Caesalpinia spinosa</i>	22,16	6	B
12,5 mg/ml	<i>Caesalpinia spinosa</i>	20,17	6	C
100 mg/ml	Nistatina	14,75	6	D
50 mg/ml	Nistatina	15,15	6	D
25 mg/ml	Nistatina	14,59	6	D
12,5 mg/ml	Nistatina	14,26	6	D

Fuente: Datos obtenidos por el investigador

## INTERPRETACIÓN

En la TABLA N° 11 se puede apreciar la aplicación de la prueba de comparaciones múltiples de Tuckey la cual dio como resultado que no existe diferencia significativa cuando se utiliza ***Caesalpinia spinosa*** a una concentración de 100 mg/ml y 50 mg/ml, es decir no se diferencian entre sí, con un promedio de 27,71 mm y 26,14 mm; sin embargo, ambos sí presentaron diferencia significativa frente a los demás tratamientos.

Los tratamientos de ***Caesalpinia spinosa*** a una concentración de 25 mg/ml y 12,5 mg/ml presentan diferencia significativa entre sí y también frente a los demás tratamientos.

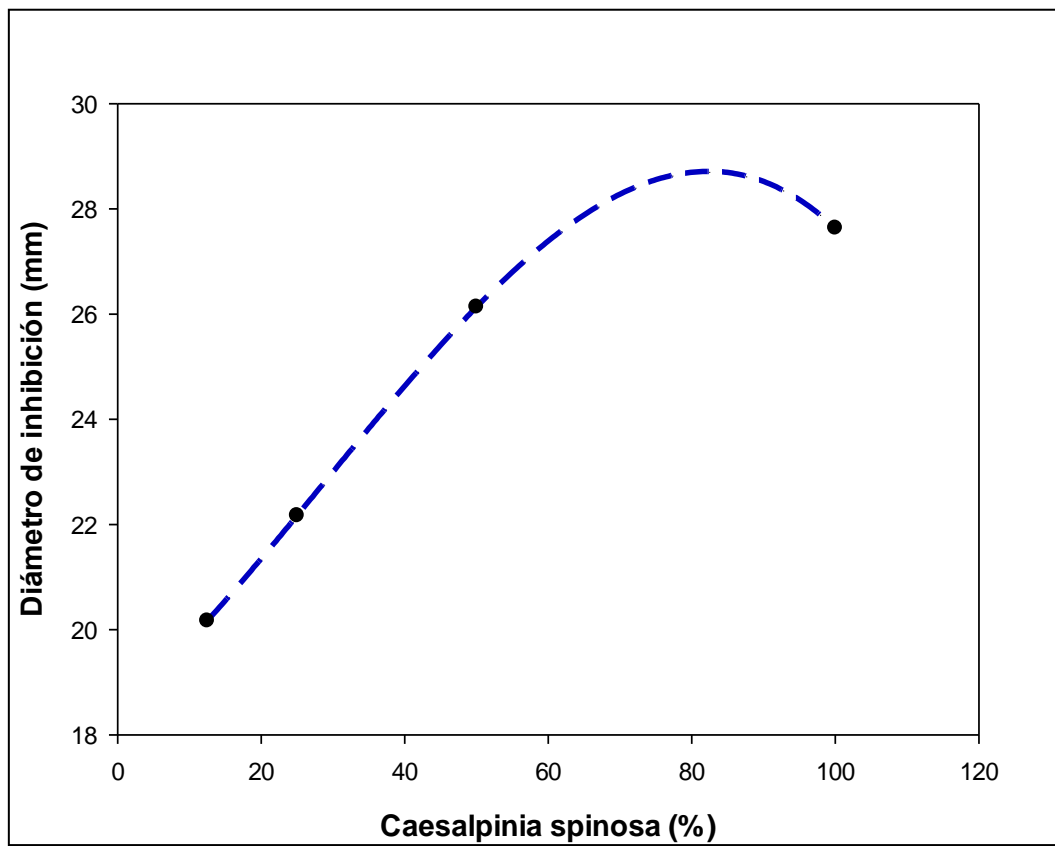
Todos los tratamientos de Nistatina no presentaron diferencias significativas entre sí; sin embargo, sí presentaron diferencia significativa frente a los demás tratamientos de ***Caesalpinia spinosa***.

La media con mayor valor la obtuvo el tratamiento de ***Caesalpinia spinosa*** a una concentración de 100 mg/ml.

La media con menor valor la obtuvo el tratamiento de Nistatina perteneciente al grupo de la concentración de 12,5 mg/ml.

### GRÁFICO N° 05

### GRÁFICO DEL MODELO MATEMÁTICO CUBICO ESPECIAL



## INTERPRETACIÓN

Este modelo matemático cúbico especial está representado por:

$$Y=18,4556 + 0,1193 X + 0,0016 X^2 - 0,0000192 X^3$$

$$R^2 =0,9999$$

El coeficiente de Determinación,  $R^2$ :

Dicho coeficiente indica que la proporción de la variación total de los datos es explicada por el modelo adoptado; teniendo en cuenta que  $R^2$  es un valor entre 0 y 1, a más cerca de 1 mejor funciona el modelo.

El Coeficiente de Variación, CV:

$$CV=5,38\%$$

Aplicado a un experimento, se puede aplicar para calcular la variación interna de los tratamientos, variación que se ve reflejada en la variancia del error. Un experimento mal controlado puede presentar demasiada variación entre las repeticiones de un mismo tratamiento, esto es error experimental. El CV depende de la variable. Si la variable está bien controlada el CV tiene que ser menor a 20%, inclusive en laboratorio se puede exigir que sea menor al 10%. Sin embargo, en investigación social descriptiva o en variables biológicas no controladas como es una plaga, es común que los CV sean grandes.

## DISCUSIÓN

La *Caesalpinia spinosa* (Tara) es una especie que ha sido utilizada de manera empírica a lo largo de la historia de la medicina natural, esto debido a las diversas propiedades curativas que se le atribuyen; una de ellas es su propiedad antimicótica o antifúngica, la cual ha sido puesta a prueba en la presente investigación.

El objetivo principal del presente trabajo fue evaluar el efecto antifúngico in vitro del extracto etanólico obtenido de vainas de *Caesalpinia spinosa* (Tara) comparado con Nistatina, sobre un cultivo de *Candida albicans* obtenido de pacientes con diagnóstico de Estomatitis Subprótesis que acuden al Centro de Salud Ciudad Nueva de Tacna en el año 2020; y luego de realizar los procedimientos correspondientes obtuvimos los promedios de los diámetros de los halos inhibitorios de cada concentración, los cuales son: 20,17 mm para la concentración 12,5 mg/ml; 22,16 mm para la concentración 25 mg/ml; 26,14 mm para la concentración 50 mg/ml y 27,71 mm para la concentración 100 mg/ml.

Con dichos resultados confirmamos que el extracto etanólico en estudio sí presenta un efecto antifúngico in vitro frente a la levadura mencionada, corroborando así que las cepas de *Candida albicans* son **SUMAMENTE SENSIBLES** según la escala de Duraffourd y Lapraz(8) (ver ANEXO n.º 9) a

las concentraciones preparadas ya que los promedios de los halos inhibitorios obtenidos para cada concentración superan los 20 mm.

Estos resultados difieren significativamente a los resultados mostrados por Benites Gómez C. (2015), los cuales indican que los promedios de diámetros de los halos inhibitorios son de 8,6 mm; 10,9 mm; 14,6 mm y 17,75 mm para las concentraciones al 25%; 50%; 75% y 100% respectivamente; esto puede deberse a que el tiempo de maceración en su estudio fue de solo 1 semana, mientras que en el presente trabajo de investigación fue de 1 año; también puede deberse a un manejo diferente de las concentraciones del extracto etanólico ya que en su estudio no se especifica cómo fueron preparadas.

Asimismo, los resultados presentados en el presente trabajo de investigación difieren con los resultados mostrados por Álvarez Choque Y. (2020), los cuales indican que los promedios de diámetros de los halos inhibitorios son de 9,99 mm; 10,8 mm; 11,8 mm y 17,5 mm para las concentraciones al 25%; 50%; 75% y 100% respectivamente; esto puede deberse a que el tiempo de maceración en su estudio fue de solo 10 días, mientras que en el presente trabajo de investigación fue de 1 año; cabe resaltar también que en su estudio no especifica la cantidad de extracto etanólico y de alcohol de 70° que se utilizó para preparar las concentraciones descritas por lo que podría tratarse de concentraciones demasiado bajas, causando así un deficiente efecto antifúngico.

Por otra parte, se obtuvo que un extracto etanólico de ***Caesalpinia spinosa*** a una concentración de 9 mg/ml es capaz de inhibir el crecimiento de ***Candida albicans***, por lo que es denominada como la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) para la levadura mencionada.

Dichos resultados difieren significativamente a los resultados mostrados por Benites Gómez C. (2015), los cuales indican que la CMI del extracto etanólico de ***Caesalpinia spinosa*** para ***Candida albicans*** es del 50%; esto puede deberse a que la técnica descrita en el estudio consultado es diferente a la técnica utilizada en el presente estudio, además de que no se especifica las cantidades del extracto etanólico y de alcohol de 70° que se utilizaron para preparar dichas concentraciones.

Finalmente, se obtuvo que un extracto etanólico de ***Caesalpinia spinosa*** a una concentración de 9,8 mg/ml es capaz de eliminar a por lo menos el 99,9% de la población de ***Candida albicans*** presente en una placa, por lo que es denominada como la Concentración Mínima Fungicida (CMF) para la levadura mencionada.

Estos resultados difieren significativamente a los resultados mostrados por Benites Gómez C. (2015), los cuales indican que un extracto etanólico de ***Caesalpinia spinosa*** a una concentración del 50% es capaz de eliminar a por lo menos el 99,9% de la población de ***Candida albicans*** presente en

una placa; sin embargo, en su estudio no menciona las cantidades de extracto etanólico ni de alcohol de 70° que se utilizó para preparar dichas concentraciones, por lo que podría tratarse de concentraciones más altas o más bajas que las preparadas en la presente investigación.

## CONCLUSIONES

### PRIMERA

Existe diferencia significativa entre el efecto antifúngico in vitro del extracto etanólico obtenido de vainas de *Caesalpinia spinosa* (Tara) comparado con Nistatina, sobre un cultivo de *Candida albicans* obtenido de pacientes con diagnóstico de Estomatitis Subprótesis que acuden al Centro de Salud Ciudad Nueva de Tacna en el año 2020.

### SEGUNDA

El efecto antifúngico del extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* a concentraciones de 12,5 mg/ml; 25 mg/ml y 50 mg/ml guardan una relación directamente proporcional al aumento de su concentración; sin embargo, la concentración de 100 mg/ml no guarda diferencia significativa con la concentración de 50 mg/ml.

### TERCERA

El extracto etanólico de ***Caesalpinia spinosa*** presenta una mayor efectividad antifúngica que la Nistatina debido a que el efecto de cada una de sus concentraciones presenta diferencia significativa respecto al efecto de la Nistatina y las cepas de ***Candida albicans*** utilizadas en el presente estudio son catalogadas como “sumamente sensibles” al extracto etanólico y “muy sensibles” a la Nistatina.

### CUARTA

La Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del extracto etanólico de ***Caesalpinia spinosa*** para las cepas de ***Candida albicans*** utilizadas en la presente investigación fue de 9 mg/ml.

### QUINTA

La Concentración Mínima Fungicida (CMF) del extracto etanólico de ***Caesalpinia spinosa*** para las cepas de ***Candida albicans*** utilizadas en la presente investigación fue de 9,8 mg/ml.

## RECOMENDACIONES

1. Es recomendable que las líneas de investigación de la Escuela Profesional de Odontología de la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann consideren la evaluación la actividad antimicrobiana del extracto etanólico de ***Caesalpinia spinosa*** frente a otros microorganismos causantes de enfermedades bucales.
2. Es aconsejable que futuros tesisistas y/o investigadores que realicen estudios similares consideren un tiempo de maceración mayor al convencional ya que podría ser un factor influyente en el resultado.
3. Es conveniente que futuros tesisistas de la Escuela Profesional de Odontología de la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann continúen con esta línea de investigación a través de estudios para evaluar la toxicidad que podrían causar los componentes de ***Caesalpinia spinosa*** y así poder determinar sus dosis terapéuticas.
4. Es recomendable que la Escuela Profesional de Odontología de la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann continúe con esta línea de investigación mediante la evaluación del efecto antifúngico del

extracto etanólico de ***Caesalpinia spinosa*** en animales de experimentación a través de su aplicación en alguna forma farmacéutica.

5. Es conveniente que futuros tesisistas de la Escuela Profesional de Odontología de la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann continúen con esta línea de investigación a través de estudios para determinar cuáles son los componentes específicos de ***Caesalpinia spinosa*** a los que se les atribuye su efecto antimicrobiano.
6. Es recomendable que la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann realicen estudios para poner a prueba de forma científica otras propiedades de ***Caesalpinia spinosa*** que se conocen de manera empírica.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Antimicrobial resistance [Internet]. World Health Organization. 2020 [citado 21 de mayo de 2021]. Disponible en: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>
2. Global action plan on antimicrobial resistance [Internet]. World Health Organization. 2015 [citado 21 de mayo de 2021]. Disponible en: <https://ahpsr.who.int/publications/i/item/global-action-plan-on-antimicrobial-resistance>
3. Mesa Arango AC, Bueno Sánchez JG, Betancur Galvis LA. [Natural products with antimycotic activity]. Rev Espanola Quimioter Publicacion Of Soc Espanola Quimioter. 2004;17(4):325-31.
4. Marca Cuello MR. Actividad antimicótica “in vitro” del aceite esencial *Cinnamomun zeylanicum* Breyn “canela” frente a *Cándida albicans* ATCC 6538, Tacna, 2012 [Internet] [Tesis de Pregrado]. [Tacna]: Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann; 2013 [citado 21 de mayo de 2021]. Disponible en: <http://repositorio.unjbg.edu.pe/handle/UNJBG/2338>
5. Aldave Pajares A, Mostacero León J. Botánica farmacéutica. 1st ed. Trujillo: Libertad; 1988. 382 p.

6. De La Torre L. La Tara: beneficios ambientales y recomendaciones para su manejo sostenible en relictos de bosque y sistemas agroforestales [Internet]. CONDESAN. 2018 [citado 24 de mayo de 2021]. Disponible en: <https://condesan.org/recursos/la-tara-beneficios-ambientales-recomendaciones-manejo-sostenible-relictos-bosque-sistemas-agroforestales/>
7. Casado Tamayo D, Quezada Oliva LM, Casado Méndez PR, Santos Fonseca RS, Méndez Jiménez O, Pérez Villavicencio AM. Efectividad del tratamiento con oleozón versus crema de aloe en la estomatitis subprotésica. *Rev Arch Méd Camagüey*. 2017;21(2):202-12.
8. Duraffourd C, Hervicourt L d', Lapraz JC. Cuadernos de fitoterapia clínica. 1st ed. Barcelona: Masson; 1987.
9. Cavalieri SJ, Harbeck RJ, McCarter YS, Ortez JH, Rankin ID, Sautter RL, et al. Manual de Pruebas de Susceptibilidad Antimicrobiana [Internet]. Spanish ed. Washington, DC: American Society for Microbiology; 2005 [citado 10 de junio de 2021]. 248 p. Disponible en: <https://www.paho.org/hq/dmdocuments/2005/susceptibilidad-antimicrobiana-manual-pruebas-2005.pdf>

10. Kabawat M, De Souza RF, Badaró MM, de Koninck L, Barbeau J, Rompré P, et al. Phase 1 clinical trial on the effect of palatal brushing on denture stomatitis. *Int J Prosthodont*. 2014;27(4):311-9.
11. Abanto Vilca M. Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de caesalpinia spinosa (tara) sobre streptococcus mutans atcc 25175 [Internet] [Tesis de Pregrado]. [Trujillo]: Universidad Nacional de Trujillo; 2016 [citado 24 de mayo de 2021]. Disponible en: <http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/1130>
12. Benites Gómez CH. Efecto inhibitorio in vitro del extracto etanólico de caesalpinia spinosa (“tara”) sobre cepa de candida albicans ATCC 90028 [Internet] [Tesis de Pregrado]. [Trujillo]: Universidad Privada Antenor Orrego; 2016 [citado 24 de mayo de 2021]. Disponible en: <https://repositorio.upao.edu.pe/handle/20.500.12759/1313>
13. Centurión Villar KM. Efecto antibacteriano in vitro de diferentes concentraciones del extracto etanólico de Caesalpinia spinosa (tara) frente a Streptococcus mutans ATCC 35668 [Internet] [Tesis de Maestría]. [Trujillo]: Universidad Privada Antenor Orrego; 2015 [citado 24 de mayo de 2021]. Disponible en: <https://repositorio.upao.edu.pe/handle/20.500.12759/972>

14. Montenegro Chipana A. Actividad antibacteriana de *Caesalpinia spinosa* (tara) sobre *Porphyromonas gingivalis* [Internet] [Tesis de Pregrado]. [Lima]: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2014 [citado 24 de mayo de 2021]. Disponible en: <https://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/20.500.12672/3723>
15. Huarino Acho M. Efecto antibacteriano de *Caesalpinia spinosa* (tara) sobre flora salival mixta [Internet] [Tesis de Pregrado]. [Lima]: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2011 [citado 24 de mayo de 2021]. Disponible en: <https://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/20.500.12672/2809>
16. Cabello Liu I. Monografía: Tara *Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze [Internet]. 1st ed. Lima: Perúbiodiverso; 2010 [citado 24 de mayo de 2021]. Disponible en: <https://repositorio.promperu.gob.pe/handle/123456789/1373>
17. Florián Castillo E. Morfología y biometría de la vaina y semilla de la «Tara» (*Caesalpinia spinosa*(Molina) Kuntze) del valle de Cajamarca [Internet] [Tesis de Pregrado]. [Cajamarca]: Universidad Nacional de Cajamarca; 2020 [citado 24 de mayo de 2021]. Disponible en: <http://repositorio.unc.edu.pe/handle/UNC/3763>

18. Basurto L. Todo sobre la Tara *Caesalpinia spinosa* o *Caesalpinia tinctoria* [Internet]. ASOCAM. 2006 [citado 24 de mayo de 2021]. Disponible en: <http://www.asocam.org/node/52550>
19. Kuklinski C. Farmacognosia: estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural. 1st ed. Barcelona: Omega; 2000.
20. De la Cruz Lapa P. Aprovechamiento integral y racional de la tara *Caesalpinia spinosa* - *Caesalpinia tinctoria*. Rev Inst Investig Fac Ing Geológica Minera Met Geográfica. 2004;7(14):64-73.
21. Churata Oroya DE. Actividad antifúngica del *Citrus paradisi* “toronja” sobre cepas de *Candida albicans* aisladas de pacientes con estomatitis subprotésica [Internet] [Tesis de Pregrado]. [Lima]: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2016 [citado 26 de mayo de 2021]. Disponible en: <https://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/20.500.12672/4924>
22. Riedel S, Hobden JA, Miller S, Morse SA, Mietzner TA, Detrick B, et al. Jawetz, Melnick & Adelberg’s medical microbiology. 28th ed. New York: McGraw-Hill Education; 2019.
23. Negroni M. Microbiología Estomatológica: Fundamentos y guía práctica. 2nd ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2009. 656 p.

24. Laforet Aguilera L. Estudio de Pga26, una proteína implicada en la arquitectura de la pared celular de *Candida albicans* [Internet] [Ph.D. Thesis]. TDX (Tesis Doctorals en Xarxa). Universitat de València; 2009 [citado 26 de mayo de 2021]. Disponible en: <http://www.tdx.cat/handle/10803/31891>
25. Johann S, Soldi C, Lyon JP, Pizzolatti MG, Resende MA. Antifungal activity of the amyirin derivatives and in vitro inhibition of *Candida albicans* adhesion to human epithelial cells. *Lett Appl Microbiol.* 2007;45(2):148-53.
26. Blanco MT, Sacristán B, Lucio L, Blanco J, Pérez Giraldo C, Gómez García AC. La hidrofobicidad de la superficie celular como indicador de otros factores de virulencia en *Candida albicans*. *Rev Iberoam Micol.* 2010;27(4):195-9.
27. De La Calle Rodríguez N, Santa Vélez C. Factores de virulencia para la infección de tejidos queratinizados por *Candida albicans* y hongos dermatofitos (Virulence factors of *Candida albicans* and dermatophytes in keratinized tissues infection). *CES Med.* 2012;26(1):43-55.
28. Pemán J, Martín Mazuelos E, Rubio Calvo MaC. Identificación y diagnóstico en micología clínica guía práctica. 2nd ed. Bilbao: Revista Iberoamericana de Micología; 2010.

29. Bonifaz Trujillo A. *Micología médica básica*. 5th ed. México: Mcgraw-Hill Interamericana De España S.L.; 2015. 726 p.
30. Rocafuerte Acurio MA, Refulio Zelada Z, Huamani Mamani JO. Estomatitis subprotésica: a propósito de un caso clínico. *Rev KIRU*. 2015;11(2):180-3.
31. Al Dwairi ZN. Prevalence and risk factors associated with denture-related stomatitis in healthy subjects attending a dental teaching hospital in North Jordan. *J Ir Dent Assoc*. 2008;54(2):80-3.
32. Bruch JM, Treister NS. *Clinical oral medicine and pathology*. 2nd ed. New York: Humana Press; 2010. 184 p.
33. Williams D, Lewis M. Pathogenesis and treatment of oral candidosis. *J Oral Microbiol*. 2011;3(1):57-71.
34. González Villa ÁA. *Obtención de aceites esenciales y extractos etanólicos de plantas del Amazonas [Internet] [Tesis de Pregrado]*. [Manizales]: Universidad Nacional de Colombia; 2004 [citado 8 de junio de 2021]. Disponible en: <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/2800>
35. Osorio Durango EJ. *Aspectos básicos de Farmacognosia [Internet]*. 1st ed. Medellín: Universidad de Antioquia; 2009 [citado 24 de mayo de 2021]. 82 p. Disponible en:

[https://www.academia.edu/16696556/Aspectos\\_b%C3%A1sicos\\_de\\_farmacognosia](https://www.academia.edu/16696556/Aspectos_b%C3%A1sicos_de_farmacognosia)

36. Llanquichoque Hilario R. Técnica de Confección de Prótesis Totales. Rev Actual Clínica Investiga. 2012;24:1148-52.
37. Argimon Pallás JM, Jiménez Villa J. Métodos de investigación clínica y epidemiológica. 5th ed. Barcelona: Elsevier; 2019. 496 p.
38. Acosta Gnass SI, De Andrade Stempliuk V. Manual de esterilización para centros de salud [Internet]. 1st ed. Washington, DC: Organización Panamericana de la Salud; 2008 [citado 11 de junio de 2021]. 188 p. Disponible en: <https://iris.paho.org/handle/10665.2/797>
39. Mendo Rubio M. Lecciones de Microbiología y Medios de Cultivo. 4th ed. Lima: Ediciones Laborales S. R. L.; 1995. 200 p.

## **ANEXOS**

## ANEXO 01

### INSTRUMENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Ficha N° \_\_\_\_\_

Fecha:    /    /    .

“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 DE PACIENTES CON DIAGNÓSTICO DE ESTOMATITIS SUBPRÓTESIS QUE ACUDEN AL CENTRO DE SALUD CIUDAD NUEVA DE TACNA EN EL AÑO 2020”.

#### DATOS SOCIODEMOGRÁFICOS:

Edad: \_\_\_\_\_ años      Género:    Masculino     Femenino

#### CUESTIONARIO:

¿Usa Prótesis Removible? Si  No     Tipo de Prótesis Removible: Total     Parcial

¿Presenta alguna enfermedad sistémica? Si  No     Si la respuesta es sí, indicar el nombre y tiempo de la enfermedad: \_\_\_\_\_

¿Está tomando algún medicamento? Si  No     Si la respuesta es sí, indicar de cada uno:

1. Nombre: \_\_\_\_\_, dosis: \_\_\_\_\_, frecuencia: \_\_\_\_\_, tiempo de uso: \_\_\_\_\_

2. Nombre: \_\_\_\_\_, dosis: \_\_\_\_\_, frecuencia: \_\_\_\_\_, tiempo de uso: \_\_\_\_\_

3. Nombre: \_\_\_\_\_, dosis: \_\_\_\_\_, frecuencia: \_\_\_\_\_, tiempo de uso: \_\_\_\_\_

**EXAMEN CLÍNICO INTRAORAL: ESTADO DE SALUD DE LA MUCOSA ORAL**

CLASIFICACIÓN DE NEWTON Y OSTLUND MODIFICADA POR KABAWAT M.		
TIPO	CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS	
TIPO 0	Mucosa saludable.	
TIPO I A	Petequias en tejido palatino normal, usualmente se encuentra alrededor de los orificios de los ductos de glándulas mucosas palatinas.	
TIPO I B	Área hiperémica localizada en la zona protésica.	
TIPO II	Área generalizada de inflamación de la zona protésica.	
TIPO III	Superficie palatina hiperplásica con inflamación en el área protésica.	

**PRUEBA DE SENSIBILIDAD ANTIFÚNGICA POR MÉTODO KIRBY-BAHUER**

Concentración del extracto	12,5 mg/ml	25 mg/ml	50 mg/ml	100 mg/ml	Nistatina (5 µg)
Halo de Inhibición (mm)					

**ESCALA DE DURAFFOURD Y LAPRAZ**

Sensibilidad	12,5 mg/ml	25 mg/ml	50 mg/ml	100 mg/ml	Nistatina (5 µg)
Sensibilidad Nula (-) (Menor a 8 mm)					
Sensible (+) (De 9 mm a 14 mm)					
Muy sensible (++) (De 15 mm a 20 mm)					
Sumamente Sensible (+++) (Mayor a 20 mm)					

## ANEXO 02

### RESOLUCIÓN DE EJECUCIÓN DE TESIS



UNIVERSIDAD NACIONAL JORGE BASADRE GROHMAN  
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

Escuelas Profesionales de: Obstetricia, Enfermería, Medicina Humana, Odontología,  
Farmacia y Bioquímica

RESOLUCIÓN DE FACULTAD N° 9729-2019-FACS-UNJBG  
Tacna, 20 de noviembre de 2019

#### VISTO:

El Oficio N° 362-2019-ESOD/FACS, recibido el 20.11.19, el Director de la Escuela Profesional de Odontología, solicitando designación de Asesor para el proyecto de tesis, y autorización para ejecución presentado por el(la) Est. JOSÉ ANDRÉ VIDAL ARIAS, y

#### CONSIDERANDO:

Que, el(la) Est. JOSÉ ANDRÉ VIDAL ARIAS, alumno de la Escuela Profesional de Odontología, solicita se le asigne Asesor para el proyecto de tesis;

Que, mediante el Oficio N° 362-2019-ESOD/FACS, recibido el 20.11.19, el Director de la Escuela Profesional de Odontología, solicitando designación de Asesor para el proyecto de tesis titulado: EFECTO ANTIMICROBIANO IN VITRO DE UN GEL ELABORADO EN BASE AL EXTRACTO ETANÓLICO OBTENIDO DE VAINAS DE *Caesalpinia spinosa* (TARA) COMPARADO CON UN GEL EN BASE A NISTATINA, SOBRE UN CULTIVO MICROBIOLÓGICO OBTENIDO DE PACIENTES CON DIAGNÓSTICO DE ESTOMATITIS SUBPRÓTESIS QUE ACUDEN AL CENTRO DE SALUD CIUDAD NUEVA DE TACNA EN EL AÑO 2019 - 2020, presentado por el(la) Est. JOSÉ ANDRÉ VIDAL ARIAS, teniendo como Asesor al C.D. Carlos Enrique Valdivia Silva;

Que, teniendo opinión favorable de su Asesor se procede a dar continuidad de trámite;

De conformidad con el Art. 70° numeral 70.2 de la Ley Universitaria N° 30220, en uso de las atribuciones conferidas a la Sra. Decana de la Facultad de Ciencias de la Salud;

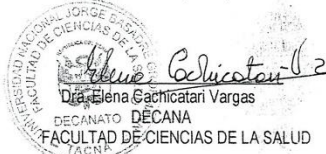
#### SE RESUELVE:



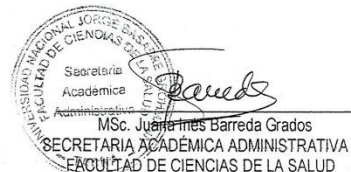
**ART. 1°:** Oficializar la Designación como Asesor al C.D. CARLOS ENRIQUE VALDIVIA SILVA, del Proyecto de Tesis titulado: EFECTO ANTIMICROBIANO IN VITRO DE UN GEL ELABORADO EN BASE AL EXTRACTO ETANÓLICO OBTENIDO DE VAINAS DE *Caesalpinia Spinosa* (TARA) COMPARADO CON UN GEL EN BASE A NISTATINA, SOBRE UN CULTIVO MICROBIOLÓGICO OBTENIDO DE PACIENTES CON DIAGNÓSTICO DE ESTOMATITIS SUBPRÓTESIS QUE ACUDEN AL CENTRO DE SALUD CIUDAD NUEVA DE TACNA EN EL AÑO 2019 - 2020, el(la) Est. JOSÉ ANDRÉ VIDAL ARIAS, de la Escuela Profesional de Odontología.

**ART. 2°:** Autorizar la ejecución de Proyecto de Tesis presentado por el(la) Est. JOSÉ ANDRÉ VIDAL ARIAS, de la Escuela Profesional de Odontología, de la Facultad de Ciencias de la Salud.

Regístrese, comuníquese y archívese.



DISTR. ESOD., INTERESADO., arch.



YDCBE/trr.-

## ANEXO 03

### RESOLUCIÓN DE MODIFICACIÓN DE TÍTULO



UNIVERSIDAD NACIONAL JORGE BASADRE GROHMANN  
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

Escuelas Profesionales de: Obstetricia, Enfermería, Medicina Humana, Odontología,  
Farmacia y Bioquímica

**RESOLUCIÓN DE FACULTAD N° 10136-2020-FACS-UNJBG**  
Tacna, 14 de setiembre de 2020

**VISTO:**

El Oficio N° 103-2020-ESOD/FACS, el Director de la Escuela Profesional de Odontología, solicita la Modificación del título del Proyecto de Tesis, presentado por el(la) Bach. JOSÉ ANDRÉ VIDAL ARIAS;

**CONSIDERANDO:**

Que, mediante la R.F. N° 9774-2019-FACS, del 13.12.20, se designa como Asesor al C.D. Carlos Enrique Valdivia Silva, para el Proyecto de tesis, titulado: EFECTO ANTIMICROBIANO IN VITRO DE UN GEL ELABORADO EN BASE AL EXTRACTO ETANÓLICO OBTENIDO DE VAINAS DE *Caesalpinia spinosa* (TARA) COMPARADO CON UN GEL EN BASE A NISTATINA, SOBRE UN CULTIVO MICROBIOLÓGICO OBTENIDO DE PACIENTES CON DIAGNÓSTICO DE ESTOMATITIS SUBPRÓTESIS QUE ACUDEN AL CENTRO DE SALUD CIUDAD NUEVA DE TACNA EN EL AÑO 2019 – 2020, presentado por el(la) Bach. JOSÉ ANDRÉ VIDAL ARIAS;

Que, a través del Oficio N° 103-2020-ESOD/FACS, el Director de la Escuela Profesional de Odontología, solicita la Modificación del título del Proyecto de Tesis a sugerencia de su asesor, debiendo en adelante titularse: 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 DE PACIENTES CON DIAGNÓSTICO DE ESTOMATITIS SUBPRÓTESIS QUE ACUDEN AL CENTRO DE SALUD CIUDAD NUEVA DE TACNA EN EL AÑO 2020, presentado por el(la) Bach. JOSÉ ANDRÉ VIDAL ARIAS;

De conformidad con el Art. 70° numeral 70.2 de la Ley Universitaria N° 30220, Art. 169 inc) b. del Estatuto de la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann, y en uso de las atribuciones conferidas a la Sra. Decana de la Facultad de Ciencias de la Salud;

**SE RESUELVE:**

**ART. UNICO:** MODIFICAR el Título del Proyecto de Tesis, presentado por el(la) Bach. JOSÉ ANDRÉ VIDAL ARIAS, debiendo ser en adelante intitular: 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 DE PACIENTES CON DIAGNÓSTICO DE ESTOMATITIS SUBPRÓTESIS QUE ACUDEN AL CENTRO DE SALUD CIUDAD NUEVA DE TACNA EN EL AÑO 2020, con opinión favorable de su asesor el C.D. CARLOS ENRIQUE VALDIVIA SILVA.

Regístrese, comuníquese y archívese.

  
Dra. Eleana Cachicstari Vargas de Oigedo  
DECANA  
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

  
Dra. Jenny Concepción Mendoza Rosado  
SECRETARIA ACADEMICA ADMINISTRATIVA  
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

DISTR: ESOD., ARCII..

JCMR/tr.-

Av. Miraflores s/n Ciudad Universitaria – Central Telefónica 583000 Anexo 2226 Casilla Postal 316.

## ANEXO 04

### VALIDACIÓN DE INSTRUMENTO (JUICIO DE EXPERTOS)

#### Juez Nº 01

PLANTILLA PARA LA VALIDEZ DE CONTENIDO DEL INSTRUMENTO QUE MIDE EL 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 DE PACIENTES CON DIAGNÓSTICO DE ESTOMATITIS SUBPRÓTESIS QUE ACUDEN AL CENTRO DE SALUD CIUDAD NUEVA DE TACNA EN EL AÑO 2020

**Nombres y Apellidos del Juez:** Wilfredo Gustavo Escalante Otárola

**Formación Académica:** Bachiller en Odontología por la Universidad Católica de Santa María, Cirujano Dentista por la Universidad Católica de Santa María, Magister en Odontología en el área de Periodoncia por la “Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho” – Brasil, Doctor en Odontología en el área de Periodoncia por la “Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho” – Brasil.

**Área de Experiencia Profesional:** Investigación en Odontología      **Tiempo:** 7 años

**Cargo actual:** Sin filiación

**Institución:** Sin filiación

**Objetivo de la investigación:** Determinar si existe algún efecto antifúngico in vitro del extracto etanólico obtenido de vainas de *Caesalpinia spinosa* (Tara) comparado con Nistatina, sobre un cultivo de *Candida albicans* obtenido de pacientes con diagnóstico de Estomatitis Subprótesis que acuden al Centro de Salud Ciudad Nueva de Tacna en el año 2020.

**Objetivo del Juicio de Expertos:** Validez de contenido del instrumento de medición documentaria.

**Objetivo de la prueba:**

- Obtener diferentes concentraciones del extracto etanólico de vainas de *Caesalpinia spinosa* (Tara).
- Evaluar la sensibilidad antifúngica del extracto etanólico obtenido de vainas de *Caesalpinia spinosa* (Tara).
- Evaluar grado de severidad de la Estomatitis Subprótesis según la clasificación de Newton y Ostlund modificada por Kabawat M.

**Cuadro para la calificación de los ítems presentes en el instrumento**

DIMENSIÓN	ÍTEM	SUFICIENCIA	CLARIDAD	COHERENCIA	RELEVANCIA	OBSERVACIONES
Características clínicas	Edad: ..... Años	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4	
	Género a. Masculino b. Femenino	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4	
	¿Usa prótesis removible? a. Si b. No	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4	
	Tipo de prótesis removible: a. Total b. Parcial					
	¿Presenta alguna enfermedad sistémica? a. Si b. No	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4	
	Si la respuesta es "Si", indicar el nombre y tiempo de la enfermedad					

	¿Está tomando algún medicamento? a. Si b. No					
	Si la respuesta es "Si", indicar de cada uno: a. Nombre b. Dosis c. Frecuencia d. Tiempo de uso.	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4	
	EXAMEN CLÍNICO INTRAORAL: ESTADO DE SALUD DE LA MUCOSA ORAL: CLASIFICACIÓN DE NEWTON Y OSTLUND MODIFICADA POR KABAWAT M. a. Tipo 0: Mucosa saludable. b. Tipo I A: Petequias en tejido palatino normal, usualmente se encuentra alrededor de los orificios de los ductos de glándulas mucosas palatinas.	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4	

	<p>c. Tipo I B: Área hiperémica localizada en la zona protésica.</p> <p>d. Tipo II: Área generalizada de inflamación de la zona protésica.</p> <p>e. Tipo III: Superficie palatina hiperplásica con inflamación en el área protésica.</p>					
<p>Concentraciones del extracto y sensibilidad antifúngica según escala de Duraffourd y Lapraz.</p>	<p>Halo de inhibición del disco embebido con el extracto etanólico de <b>Caesalpinia spinosa</b> (Tara) en mm:</p> <p>a. 12.5 mg/ml: ..... mm</p> <p>b. 25 mg/ml: ..... mm</p> <p>c. 50 mg/ml: ..... mm</p> <p>d. 100 mg/ml: ..... mm</p> <p>Halo de inhibición del disco de sensibilidad antifúngica de Nistatina en mm:</p> <p>a. 5 µg: ..... Mm</p>	<p>1 2 3 4</p>	<p>1 2 3 4</p>	<p>1 2 3 4</p>	<p>1 2 3 4</p>	

	<p>Grado de sensibilidad antifúngica según escala de Duraffourd y Lapraz:</p> <p>a. Sensibilidad Nula (-): Menor a 9 mm.</p> <p>b. Sensibilidad Límite (+): De 9 mm a 14 mm.</p> <p>c. Sensibilidad Media (++) : De 15 mm a 19 mm.</p> <p>d. Sumamente Sensible (+++): Mayor o igual a 20 mm.</p>	<p>1 2 3 4</p>	<p>1 2 3 4</p>	<p>1 2 3 4</p>	<p>1 2 3 4</p>	
--	---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----------------	----------------	----------------	----------------	--

RESULTADOS DE LA VALIDACIÓN:

OPINIÓN: FAVORABLE  DEBE MEJORAR ..... NO FAVORABLE .....

OBSERVACIONES:

El instrumento está bastante completo. Sin embargo, sobre el diseño del estudio, no me quedó claro en qué momento se hará la comparación con la Nistatina, cómo se menciona en el objetivo general. Recomiendo incluir esa comparación en los experimentos. Así mismo, considerar la posibilidad de adicionar otra metodología microbiológica para fortalecer el trabajo, si hubieran intenciones de publicación.....

Tacna, 27 de ..... diciembre ..... del ...2020....

FIRMA: .....

DNI: ..... 42600685 .....

## Juez N° 02

PLANTILLA PARA LA VALIDEZ DE CONTENIDO DEL INSTRUMENTO QUE MIDE EL 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 DE PACIENTES CON DIAGNÓSTICO DE ESTOMATITIS SUBPRÓTESIS QUE ACUDEN AL CENTRO DE SALUD CIUDAD NUEVA DE TACNA EN EL AÑO 2020

**Nombres y Apellidos del Juez:** María Patricia Revilla Loayza

**Formación Académica:** Bachiller en Odontología por la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann, Cirujano Dentista por la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann, Magister en Estomatología con mención en Patología, Especialidad de Medicina y Patología Estomatológica.

**Área de Experiencia Profesional:** Jefe de prácticas en postgrado en el Departamento de Cirugía y Medicina Bucomaxilofacial de la Universidad Peruana Cayetano Heredia.

**Tiempo:** 2 años

**Cargo actual:** Consulta particular

**Objetivo de la investigación:** Determinar si existe algún efecto antifúngico in vitro del extracto etanólico obtenido de vainas de *Caesalpinia spinosa* (Tara) comparado con Nistatina, sobre un cultivo de *Candida albicans* obtenido de pacientes con diagnóstico de Estomatitis Subprótesis que acuden al Centro de Salud Ciudad Nueva de Tacna en el año 2020.

**Objetivo del Juicio de Expertos:** Validez de contenido del instrumento de medición documentaria.

**Objetivo de la prueba:**

- Obtener diferentes concentraciones del extracto etanólico de vainas de *Caesalpinia spinosa* (Tara).
- Evaluar la sensibilidad antifúngica del extracto etanólico obtenido de vainas de *Caesalpinia spinosa* (Tara).
- Evaluar grado de severidad de la Estomatitis Subprótesis según la clasificación de Newton y Ostlund modificada por Kabawat M.

**Cuadro para la calificación de los ítems presentes en el instrumento**

DIMENSIÓN	ÍTEM	SUFICIENCIA	CLARIDAD	COHERENCIA	RELEVANCIA	OBSERVACIONES
Características clínicas	Edad: ..... Años	1 2 ③ 4	1 2 3 ④	1 ② 3 4	1 ② 3 4	
	Género a. Masculino b. Femenino	1 2 ③ 4	1 2 3 ④	1 ② 3 4	1 ② 3 4	
	¿Usa prótesis removable? a. Si b. No	1 2 3 ④	1 2 3 ④	1 2 3 ④	1 2 3 ④	
	Tipo de prótesis removable: a. Total b. Parcial					
	¿Presenta alguna enfermedad sistémica? a. Si b. No  Si la respuesta es "Si", indicar el nombre y tiempo de la enfermedad	1 2 3 ④	1 2 3 ④	1 2 3 ④	1 2 3 ④	
	¿Está tomando algún medicamento? a. Si b. No Si la respuesta es "Si", indicar de cada uno: a. Nombre b. Dosis c. Frecuencia d. Tiempo de uso.	1 2 3 ④	1 2 3 ④	1 2 3 ④	1 2 3 ④	
	EXAMEN CLÍNICO INTRAORAL: ESTADO DE SALUD DE LA MUCOSA ORAL: CLASIFICACIÓN DE NEWTON Y OSTLUND MODIFICADA POR KABAWAT M. a. Tipo 0: Mucosa saludable. b. Tipo I A: Petequias en tejido palatino normal, usualmente se encuentra alrededor de los orificios de los ductos de glándulas mucosas palatinas.	1 2 3 ④	1 2 3 ④	1 2 3 ④	1 2 3 ④	

	<p>c. Tipo I B: Área hiperémica localizada en la zona protésica.</p> <p>d. Tipo II: Área generalizada de inflamación de la zona protésica.</p> <p>e. Tipo III: Superficie palatina hiperplásica con inflamación en el área protésica.</p>					
<p>Concentraciones del extracto y sensibilidad antifúngica según escala de Duraffourd y Lapraz.</p>	<p>Halo de inhibición del disco embebido con el extracto etanólico de <b>Caesalpinia spinosa</b> (Tara) en mm:</p> <p>a. 12.5 mg/ml: ..... mm</p> <p>b. 25 mg/ml: ..... mm</p> <p>c. 50 mg/ml: ..... mm</p> <p>d. 100 mg/ml: ..... mm</p> <p>Halo de inhibición del disco de sensibilidad antifúngica de Nistatina en mm:</p> <p>a. 5 µg: ..... Mm</p>	1 2 3 ④	1 2 3 ④	1 2 3 ④	1 2 3 ④	

	<p>Grado de sensibilidad antifúngica según escala de Duraffourd y Lapraz:</p> <p>a. Sensibilidad Nula (-): Menor a 9 mm.</p> <p>b. Sensibilidad Límite (+): De 9 mm a 14 mm.</p> <p>c. Sensibilidad Media (++): De 15 mm a 19 mm.</p> <p>d. Sumamente Sensible (+++): Mayor o igual a 20 mm.</p>	1 2 3 ④	1 2 3 ④	1 2 3 ④	1 2 3 ④	
--	--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	---------	---------	---------	---------	--

RESULTADOS DE LA VALIDACIÓN:

OPINIÓN: FAVORABLE  DEBE MEJORAR ..... NO FAVORABLE .....

OBSERVACIONES:

.....

.....

.....

Tacna, 22 de mayo del 2021

FIRMA: .....



DNI: 43767254

## Juez Nº 03

### PLANTILLA PARA LA VALIDEZ DE CONTENIDO DEL INSTRUMENTO QUE MIDE EL 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 DE PACIENTES CON DIAGNÓSTICO DE ESTOMATITIS SUBPRÓTESIS QUE ACUDEN AL CENTRO DE SALUD CIUDAD NUEVA DE TACNA EN EL AÑO 2020

**Nombres y Apellidos del Juez:** Rina María Álvarez Becerra

**Formación Académica:** Bachiller en Ciencias con mención en Obstetricia por la Universidad Católica de Santa María, Licenciada en Obstetricia por la Universidad Católica de Santa María, Magister en Docencia Universitaria y Gestión Educativa por la Universidad Privada de Tacna, Doctor en Educación con mención en Gestión Educativa por la Universidad Privada de Tacna, Bachiller en Derecho y Ciencias Políticas por la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann, Abogado por la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann, Segunda Especialidad en Salud Reproductiva por la Universidad José Carlos Mariátegui, Segunda Especialidad en Estadística para la Investigación por la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa.

**Área de Experiencia Profesional:** Docente ordinaria en Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann, Directora de la Escuela de Postgrado en Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann.

**Tiempo:** 35 años

**Cargo actual:** Docente de la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann

**Institución:** Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann.

**Objetivo de la investigación:** Determinar si existe algún efecto antifúngico in vitro del extracto etanólico obtenido de vainas de *Caesalpinia spinosa* (Tara) comparado con Nistatina, sobre un cultivo de *Candida albicans* obtenido de pacientes con diagnóstico de Estomatitis Subprótesis que acuden al Centro de Salud Ciudad Nueva de Tacna en el año 2020.

**Objetivo del Juicio de Expertos:** Validez de contenido del instrumento de medición documentaria.

**Objetivo de la prueba:**

- Obtener diferentes concentraciones del extracto etanólico de vainas de *Caesalpinia spinosa* (Tara).
- Evaluar la sensibilidad antifúngica del extracto etanólico obtenido de vainas de *Caesalpinia spinosa* (Tara).
- Evaluar grado de severidad de la Estomatitis Subprótesis según la clasificación de Newton y Ostlund modificada por Kabawat M.

**Cuadro para la calificación de los ítems presentes en el instrumento**

DIMENSIÓN	ÍTEM	SUFICIENCIA	CLARIDAD	COHERENCIA	RELEVANCIA	OBSERVACIONES
Características clínicas	Edad: ..... Años	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4	
	Género a. Masculino b. Femenino	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4	Sugiero considerar sexo hombre mujer, ya que género es una categoría social
	¿Usa prótesis removible? a. Si b. No	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4	
	Tipo de prótesis removible: a. Total b. Parcial					
	¿Presenta alguna enfermedad sistémica? a. Si b. No  Si la respuesta es "Si", indicar el nombre y tiempo de la enfermedad	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4	Sugiero agregar entre paréntesis el significado de enfermedad sistémica en términos sencillos para el encuestado

	¿Está tomando algún medicamento? a. Si b. No Si la respuesta es "Si", indicar de cada uno: a. Nombre b. Dosis c. Frecuencia d. Tiempo de uso.	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4	
	EXAMEN CLÍNICO INTRAORAL: ESTADO DE SALUD DE LA MUCOSA ORAL: CLASIFICACIÓN DE NEWTON Y OSTLUND MODIFICADA POR KABAWAT M. a. Tipo 0: Mucosa saludable. b. Tipo IA: Petequias en tejido palatino normal, usualmente se encuentra alrededor de los orificios de los ductos de glándulas mucosas palatinas.	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4	

	<p>c. Tipo I B: Área hiperémica localizada en la zona protésica.</p> <p>d. Tipo II: Área generalizada de inflamación de la zona protésica.</p> <p>e. Tipo III: Superficie palatina hiperplásica con inflamación en el área protésica.</p>																
<p>Concentraciones del extracto y sensibilidad antifúngica según escala de Duraffourd y Lapraz.</p>	<p>Halo de inhibición del disco embebido con el extracto etanólico de <i>Caesalpinia spinosa</i> (Tara) en mm:</p> <p>a. 12.5 mg/ml: ..... mm</p> <p>b. 25 mg/ml: ..... mm</p> <p>c. 50 mg/ml: ..... mm</p> <p>d. 100 mg/ml: ..... mm</p> <p>Halo de inhibición del disco de sensibilidad antifúngica de Nistatina en mm:</p> <p>a. 5 µg: ..... Mm</p>	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4

	<p>Grado de sensibilidad antifúngica según escala de Duraffourd y Lapraz:</p> <p>a. Sensibilidad Nula (-): Menor a 9 mm.</p> <p>b. Sensibilidad Límite (+): De 9 mm a 14 mm.</p> <p>c. Sensibilidad Media (++) : De 15 mm a 19 mm.</p> <p>d. Sumamente Sensible (+++): Mayor o igual a 20 mm.</p>																
		1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4

RESULTADOS DE LA VALIDACIÓN:

OPINIÓN: FAVORABLE  DEBE MEJORAR  NO FAVORABLE .....

OBSERVACIONES:



Dra. Rina Maria Alvarez Becerra

DNI: 00425041

Tacna, 11 de JUNIO del 2021

## Juez N° 04

**PLANTILLA PARA LA VALIDEZ DE CONTENIDO DEL INSTRUMENTO QUE MIDE EL 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 DE PACIENTES CON DIAGNÓSTICO DE ESTOMATITIS SUBPRÓTESIS QUE ACUDEN AL CENTRO DE SALUD CIUDAD NUEVA DE TACNA EN EL AÑO 2020**

**Nombres y Apellidos del Juez:** Ángela Verónica Choque Miranda

**Formación Académica:** Bachiller en Ciencias Biológicas por la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann, Biólogo Microbiólogo por la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann, Magister Scientiae con mención en Ciencias y Tecnología en Alimentos por la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann.

**Área de Experiencia Profesional:** Biólogo – Microbiólogo.

**Tiempo:** 25 años

**Cargo actual:** Jefa del Departamento de la Escuela Profesional de Biología y Microbiología.

**Institución:** Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann.

**Objetivo de la investigación:** Determinar si existe algún efecto antifúngico in vitro del extracto etanólico obtenido de vainas de *Caesalpinia spinosa* (Tara) comparado con Nistatina, sobre un cultivo de *Candida albicans* obtenido de pacientes con diagnóstico de Estomatitis Subprótesis que acuden al Centro de Salud Ciudad Nueva de Tacna en el año 2020.

**Objetivo del Juicio de Expertos:** Validez de contenido del instrumento de medición documentaria.

**Objetivo de la prueba:**

- Obtener diferentes concentraciones del extracto etanólico de vainas de *Caesalpinia spinosa* (Tara).
- Evaluar la sensibilidad antifúngica del extracto etanólico obtenido de vainas de *Caesalpinia spinosa* (Tara).
- Evaluar grado de severidad de la Estomatitis Subprótesis según la clasificación de Newton y Ostlund modificada por Kabawat M.

**Cuadro para la calificación de los ítems presentes en el instrumento**

DIMENSIÓN	ÍTEM	SUFICIENCIA	CLARIDAD	COHERENCIA	RELEVANCIA	OBSERVACIONES
Características clínicas	Edad: ..... Años	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4	4
	Género a. Masculino b. Femenino	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4	4
	¿Usa prótesis removible? a. Si b. No	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4	4
	Tipo de prótesis removible: a. Total b. Parcial					
	¿Presenta alguna enfermedad sistémica? a. Si b. No	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4	4
	Si la respuesta es "Si", indicar el nombre y tiempo de la enfermedad					
	¿Está tomando algún medicamento? a. Si b. No Si la respuesta es "Si", indicar de cada uno: a. Nombre b. Dosis c. Frecuencia d. Tiempo de uso.	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4	4
	EXAMEN CLÍNICO INTRAORAL: ESTADO DE SALUD DE LA MUCOSA ORAL: CLASIFICACIÓN DE NEWTON Y OSTLUND MODIFICADA POR KABAWAT M. a. Tipo 0: Mucosa saludable. b. Tipo I A: Petequias en tejido palatino normal, usualmente se encuentra alrededor de los orificios de los ductos de glándulas mucosas palatinas.	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4	4

	<p>c. Tipo I B: Área hiperémica localizada en la zona protésica.</p> <p>d. Tipo II: Área generalizada de inflamación de la zona protésica.</p> <p>e. Tipo III: Superficie palatina hiperplásica con inflamación en el área protésica.</p>					
<p>Concentraciones del extracto y sensibilidad antifúngica según escala de Duraffourd y Lapraz.</p>	<p>Halo de inhibición del disco embebido con el extracto etanólico de <i>Caesalpinia spinosa</i> (Tara) en mm:</p> <p>a. 12.5 mg/ml: ..... mm</p> <p>b. 25 mg/ml: ..... mm</p> <p>c. 50 mg/ml: ..... mm</p> <p>d. 100 mg/ml: ..... mm</p> <p>Halo de inhibición del disco de sensibilidad antifúngica de Nistatina en mm:</p> <p>a. 5 µg: ..... Mm</p>	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4	4

	<p>Grado de sensibilidad antifúngica según escala de Duraffourd y Lapraz:</p> <p>a. Sensibilidad Nula (-): Menor a 9 mm.</p> <p>b. Sensibilidad Límite (+): De 9 mm a 14 mm.</p> <p>c. Sensibilidad Media (++) : De 15 mm a 19 mm.</p> <p>d. Sumamente Sensible (+++): Mayor o igual a 20 mm.</p>	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4	4
--	---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	---------	---------	---------	---------	---

RESULTADOS DE LA VALIDACIÓN:

OPINIÓN: FAVORABLE Aceptado ..... DEBE MEJORAR..... NO FAVORABLE.....

OBSERVACIONES:

Ninguna

.....

.....

Tacna, 02 de Junio ..... del 2021.....

FIRMA: 

DNI: 00513893

## Juez N° 05

**PLANTILLA PARA LA VALIDEZ DE CONTENIDO DEL INSTRUMENTO QUE MIDE EL 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 DE PACIENTES CON DIAGNÓSTICO DE ESTOMATITIS SUBPRÓTESIS QUE ACUDEN AL CENTRO DE SALUD CIUDAD NUEVA DE TACNA EN EL AÑO 2020**

**Nombres y Apellidos del Juez:** Edwin Denis Obando Velarde

**Formación Académica:** Bachiller en Ciencias Biológicas por la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann, Biólogo Microbiólogo por la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann.

**Área de Experiencia Profesional:** Biólogo – Microbiólogo.

**Tiempo:** 21 años

**Cargo actual:** Docente Especialista en Laboratorio de Microbiología.

**Institución:** Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann.

**Objetivo de la investigación:** Determinar si existe algún efecto antifúngico in vitro del extracto etanólico obtenido de vainas de *Caesalpinia spinosa* (Tara) comparado con Nistatina, sobre un cultivo de *Candida albicans* obtenido de pacientes con diagnóstico de Estomatitis Subprótesis que acuden al Centro de Salud Ciudad Nueva de Tacna en el año 2020.

**Objetivo del Juicio de Expertos:** Validez de contenido del instrumento de medición documentaria.

**Objetivo de la prueba:**

- Obtener diferentes concentraciones del extracto etanólico de vainas de *Caesalpinia spinosa* (Tara).
- Evaluar la sensibilidad antifúngica del extracto etanólico obtenido de vainas de *Caesalpinia spinosa* (Tara).
- Evaluar grado de severidad de la Estomatitis Subprótesis según la clasificación de Newton y Ostlund modificada por Kabawat M.

Cuadro para la calificación de los ítems presentes en el instrumento

DIMENSIÓN	ÍTEM	SUFICIENCIA	CLARIDAD	COHERENCIA	RELEVANCIA	OBSERVACIONES
Características clínicas	Edad: ..... Años	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4	4
	Género a. Masculino b. Femenino	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4	4
	¿Usa prótesis removible? a. Si b. No	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4	4
	Tipo de prótesis removible: a. Total b. Parcial					
	¿Presenta alguna enfermedad sistémica? a. Si b. No	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4	4
	Si la respuesta es "Si", indicar el nombre y tiempo de la enfermedad					

	¿Está tomando algún medicamento? a. Si b. No Si la respuesta es "Si", indicar de cada uno: a. Nombre b. Dosis c. Frecuencia d. Tiempo de uso.	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4	4
	EXAMEN CLÍNICO INTRAORAL: ESTADO DE SALUD DE LA MUCOSA ORAL: CLASIFICACIÓN DE NEWTON Y OSTLUND MODIFICADA POR KABAWAT M. a. Tipo 0: Mucosa saludable. b. Tipo I A: Petequias en tejido palatino normal, usualmente se encuentra alrededor de los orificios de los ductos de glándulas mucosas palatinas.	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4	4

	<p>c. Tipo I B: Área hiperémica localizada en la zona protésica.</p> <p>d. Tipo II: Área generalizada de inflamación de la zona protésica.</p> <p>e. Tipo III: Superficie palatina hiperplásica con inflamación en el área protésica.</p>					
<p>Concentraciones del extracto y sensibilidad antifúngica según escala de Duraffourd y Lapraz.</p>	<p>Halo de inhibición del disco embebido con el extracto etanólico de <b>Caesalpinia spinosa</b> (Tara) en mm:</p> <p>a. 12.5 mg/ml: ..... mm</p> <p>b. 25 mg/ml: ..... mm</p> <p>c. 50 mg/ml: ..... mm</p> <p>d. 100 mg/ml: ..... mm</p> <p>Halo de inhibición del disco de sensibilidad antifúngica de Nistatina en mm:</p> <p>a. 5 µg: ..... Mm</p>	<p>1 2 3 4</p>	<p>1 2 3 4</p>	<p>1 2 3 4</p>	<p>1 2 3 4</p>	<p>1 2 3 4</p>

	<p>Grado de sensibilidad antifúngica según escala de Duraffourd y Lapraz:</p> <p>a. Sensibilidad Nula (-): Menor a 9 mm.</p> <p>b. Sensibilidad Límite (+): De 9 mm a 14 mm.</p> <p>c. Sensibilidad Media (++) : De 15 mm a 19 mm.</p> <p>d. Sumamente Sensible (+++): Mayor o igual a 20 mm.</p>	<p>1 2 3 4</p>	<p>1 2 3 4</p>	<p>1 2 3 4</p>	<p>1 2 3 4</p>	<p>1 2 3 4</p>
--	---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----------------	----------------	----------------	----------------	----------------

RESULTADOS DE LA VALIDACIÓN:

OPINIÓN: FAVORABLE  DEBE MEJORAR ..... NO FAVORABLE .....

OBSERVACIONES:

Ninguna

Tacna, 25 de Mayo del 2021.

FIRMA: 

DNI: 29609940

## ANEXO Nº 05

### ANÁLISIS DE VALIDACIÓN (V DE AIKEN)

Ítem	Categoría	Juez 1	Juez 2	Juez 3	Juez 4	Juez 5	V de Aiken
1	Suficiencia	4	3	4	4	4	0,933
	Claridad	4	4	4	4	4	1,000
	Coherencia	4	2	4	4	4	0,867
	Relevancia	4	2	4	4	4	0,867
2	Suficiencia	4	3	4	4	4	0,933
	Claridad	4	4	3	4	4	0,933
	Coherencia	4	2	4	4	4	0,867
	Relevancia	4	2	4	4	4	0,867
3	Suficiencia	4	4	4	4	4	1,000
	Claridad	4	4	4	4	4	1,000
	Coherencia	4	4	4	4	4	1,000
	Relevancia	4	4	4	4	4	1,000
4	Suficiencia	4	4	4	4	4	1,000
	Claridad	4	4	3	4	4	0,933
	Coherencia	4	4	4	4	4	1,000
	Relevancia	4	4	4	4	4	1,000
5	Suficiencia	4	4	4	4	4	1,000
	Claridad	4	4	4	4	4	1,000
	Coherencia	4	4	4	4	4	1,000
	Relevancia	4	4	4	4	4	1,000
6	Suficiencia	4	4	4	4	4	1,000
	Claridad	4	4	4	4	4	1,000
	Coherencia	4	4	4	4	4	1,000
	Relevancia	4	4	4	4	4	1,000
7	Suficiencia	4	4	4	4	4	1,000
	Claridad	4	4	4	4	4	1,000
	Coherencia	4	4	4	4	4	1,000
	Relevancia	4	4	4	4	4	1,000
8	Suficiencia	4	4	4	4	4	1,000
	Claridad	4	4	4	4	4	1,000
	Coherencia	4	4	4	4	4	1,000
	Relevancia	4	4	4	4	4	1,000
<b>PROMEDIO GENERAL DE LA V DE AIKEN</b>							<b>0,975</b>

## ANEXO 06

# CONSTANCIA DE EJECUCIÓN DE TOMA DE MUESTRAS EN CLAS CENTRO DE SALUD CIUDAD NUEVA DE TACNA



RED  
SALUD  
TACNA



ESTABLECIMIENTO: CENTRO DE SALUD CIUDAD NUEVA

"Año del Bicentenario del Perú: 200 años de Independencia"  
"Decenio de la Igualdad de Oportunidades para Mujeres y Hombres"

### CONSTANCIA

Se hace constar que el Bachiller de la Escuela de Odontología de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann de Tacna, Señor **José André Vidal Arias**, identificado con Documento Nacional de Identidad N° **70081725**, realizó la parte clínica de su tesis titulada: "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 DE PACIENTES CON DIAGNÓSTICO DE ESTOMATITIS SUBPRÓTESIS QUE ACUDEN AL CENTRO DE SALUD CIUDAD NUEVA DE TACNA EN EL AÑO 2020" en el Servicio de Odontología del CLAS Centro de Salud Ciudad Nueva de Tacna durante el siguiente periodo: de noviembre del 2020 a marzo del 2021. **demostró ser un Bachiller de la Escuela de Odontología con grandes cualidades, buen trato personal y capacidad de liderazgo, eficiente y responsable.**

**SE EXPIDE LA PRESENTE, A PETICION DEL INTERESADO, PARA LOS FINES QUE ESTIME POR CONVENIENTE, NO TENIENDO VALOR OFICIAL PARA ACCION JUDICIAL CONTRA EL ESTADO.**

Tacna, 21 de julio del 2021



Dr. Juan José Bordillo Mamani  
C.M. 39771  
GERENTE CLAS C.S.C. NUEVA

*Salud Nueva Actitud*  
Casimiro espejo 489 Teléfono Fax: (052) 577550-577521-577518-577472 Tacna - Perú  
Correo electrónico: [csnueva@gmail.com](mailto:csnueva@gmail.com)  
TACNA-PERU

## ANEXO 07

# CONSTANCIA DE EJECUCIÓN DE LA PARTE EXPERIMENTAL EN EL LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA



**Universidad Nacional "Jorge Basadre Grohmann" – Tacna**  
**FACULTAD DE CIENCIAS**

Escuela Académico Profesional de: Biología-Microbiología y Física Aplicada



## CONSTANCIA

Se hace constar que el Bachiller de la Escuela de Odontología de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Jorge Basadre Grohmann de Tacna, Señor **José André Vidal Arias** con **código de matrícula N° 2014-124013** y con **documento de Identidad N° 70081725** realizó la parte experimental de su tesis titulada "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 DE PACIENTES CON DIAGNÓSTICO DE ESTOMATITIS SUBPRÓTESIS QUE ACUDEN AL CENTRO DE SALUD CIUDAD NUEVA DE TACNA EN EL AÑO 2020" Con fecha de enero del 2020 a mayo del 2021.

La presente se extiende a petición del interesado para los fines que él estime a los quince días del mes de junio de 2021.

Atentamente

  
Biólogo – Microbiólogo  
Especialista del Laboratorio de Microbiología

Edwin Denis Obando Velarde

Ciudad Universitaria Av. Miraflores s/n  
Apartado 316 Teléfono:052-583000 Anexo: 2102 - Fax: 2101

**ANEXO Nº 08**

**CUADRO DE CONCENTRACIONES Y VOLÚMENES PARA LA  
CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA (CMI)**

	<b>T #</b>	<b>CONCENTRACIÓN INICIAL</b>	<b>VOLUMEN INICIAL</b>	<b>VOLUMEN DE LEVADURAS</b>	<b>VOLUMEN DE CALDO BHI</b>	<b>CONCENTRACIÓN FINAL</b>
<b>T R A T A M I E N T O S</b>	<b>T 1</b>	45 mg/ml	333,3 µL	300 µL	2366,7 µL	5 mg/ml
	<b>T 2</b>	45 mg/ml	360,0 µL	300 µL	2340,0 µL	5,4 mg/ml
	<b>T 3</b>	45 mg/ml	386,7 µL	300 µL	2313,3 µL	5,8 mg/ml
	<b>T 4</b>	45 mg/ml	413,3 µL	300 µL	2286,7 µL	6,2 mg/ml
	<b>T 5</b>	45 mg/ml	440,0 µL	300 µL	2260,0 µL	6,6 mg/ml
	<b>T 6</b>	45 mg/ml	466,7 µL	300 µL	2233,3 µL	7 mg/ml
	<b>T 7</b>	45 mg/ml	493,3 µL	300 µL	2206,7 µL	7,4 mg/ml
	<b>T 8</b>	45 mg/ml	520,0 µL	300 µL	2180,0 µL	7,8 mg/ml
	<b>T 9</b>	45 mg/ml	546,7 µL	300 µL	2153,3 µL	8,2 mg/ml
	<b>T 10</b>	45 mg/ml	573,3 µL	300 µL	2126,7 µL	8,6 mg/ml
	<b>T 11</b>	45 mg/ml	600,0 µL	300 µL	2100,0 µL	9 mg/ml
	<b>T 12</b>	45 mg/ml	626,7 µL	300 µL	2073,3 µL	9,4 mg/ml
	<b>T 13</b>	45 mg/ml	653,3 µL	300 µL	2046,7 µL	9,8 mg/ml
	<b>T 14</b>	45 mg/ml	680,0 µL	300 µL	2020,0 µL	10,2 mg/ml
	<b>T 15</b>	45 mg/ml	706,7 µL	300 µL	1993,3 µL	10,6 mg/ml
	<b>T 16</b>	45 mg/ml	733,3 µL	300 µL	1966,7 µL	11 mg/ml
	<b>T 17</b>	45 mg/ml	760,0 µL	300 µL	1940,0 µL	11,4 mg/ml
	<b>T 18</b>	45 mg/ml	786,7 µL	300 µL	1913,3 µL	11,8 mg/ml
	<b>T 19</b>	45 mg/ml	813,3 µL	300 µL	1886,7 µL	12,2 mg/ml
	<b>T 20</b>	45 mg/ml	840,0 µL	300 µL	1860,0 µL	12,6 mg/ml

**ANEXO N° 09**

**ESCALA DE SENSIBILIDAD DE DURAFFOURD Y LAPRAZ**

<b>ESTATUS</b>	<b>MEDIDAS EN MM</b>
Sensibilidad Nula (-),	< 8mm
Sensible (+)	>8mm ≤14mm
Muy sensible (++)	>14-20mm
Sumamente Sensible (+++)	> 20mm

ANEXO 10

SECUENCIA FOTOGRÁFICA

RECOLECCIÓN DE *Caesalpinia spinosa* (TARA)



Fotografía Nº 01: Recolección de vainas de *Caesalpinia spinosa* (Tara).

## PREPARACIÓN DE LA MUESTRA RECOLECTADA



**Fotografía N° 02:** Lavado de la muestra recolectada.



**Fotografía N° 03:** Secado natural de la muestra recolectada.



**Fotografía N° 04:** Transporte de vainas recolectadas en un saco de papel.



**Fotografía N° 05:** Molienda de las vainas recolectadas.

## OBTENCIÓN DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Caesalpinia spinosa*



**Fotografía N° 06:** Pesado de las vainas pulverizadas.



**Fotografía N° 07:** Llenado de la damajuana con alcohol 70° para la maceración.



**Fotografía Nº 08:** Filtrado del macerado.



**Fotografía N° 09:** Residuos obtenidos después del filtrado.



**Fotografía N° 10:** Envolvimiento para traslado hacia el desecador.



**Fotografía N° 11:** Proceso de desecado en un Drawer Drier modelo IC106D de la marca DIDACTA ITALIA.



**Fotografía N° 12:** Desechado terminado.



**Fotografía N° 13:** Raspado del extracto etanólico solidificado.



**Fotografía N° 14:** Almacenamiento del extracto etanólico en un frasco de color ámbar.



**Fotografía N° 15:** Pesado del extracto etanólico obtenido y envolvimiento del recipiente con papel aluminio.

## RECOLECCIÓN DE LAS MUESTRAS MICROBIOLÓGICAS



**Fotografía N° 16:** Preparado de tubos con Caldo Infusión Cerebro Corazón  
(Caldo BHI).





**Fotografía N° 19:** Transporte de tubos de ensayo en una caja térmica.



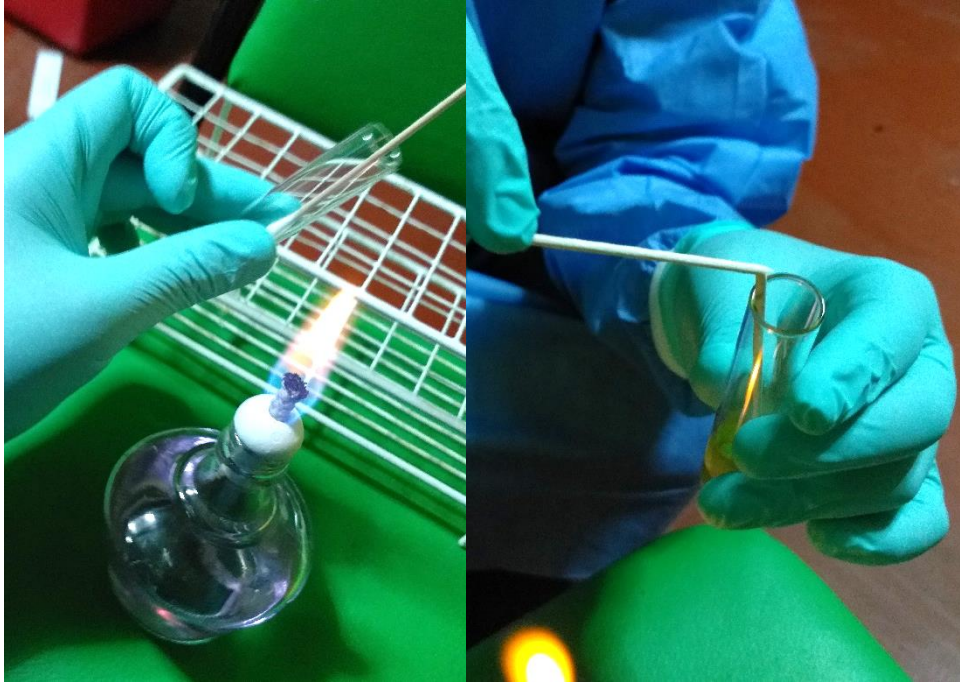
**Fotografía N° 20:** Preparación de material para la toma de muestra.



**Fotografía N° 21:** Toma de muestra microbiológica.



**Fotografía N° 22:** Flameado de la boca del tubo de ensayo para control de esterilidad.



**Fotografía N° 23:** Sumergido del hisopo en el caldo BHI.

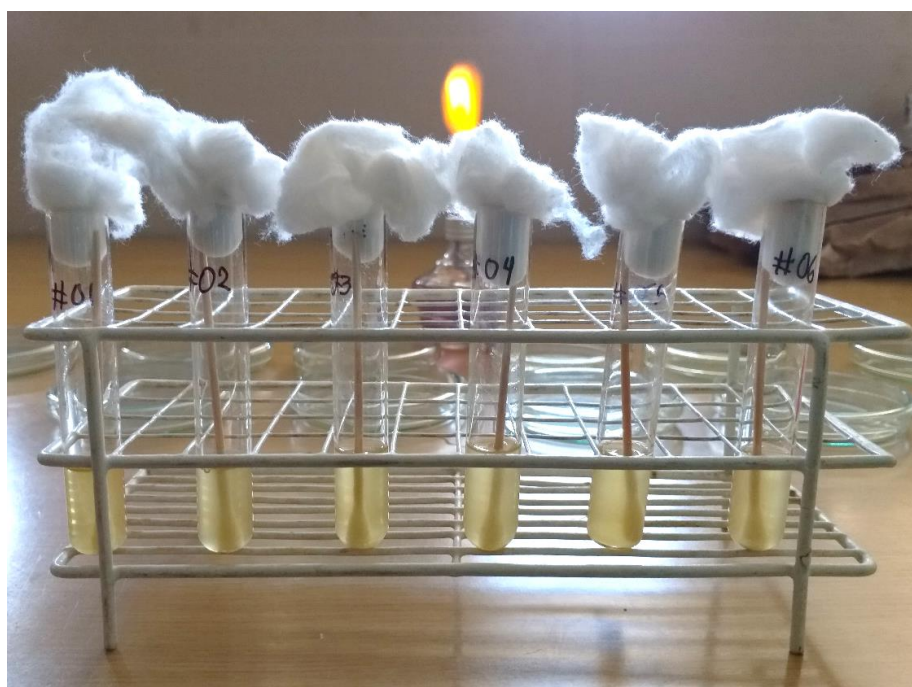
## PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS RECOLECTADAS



Fotografía N° 24: Preparado del Agar Papa Dextrosa (PDA)



**Fotografía N° 25:** Pesado del Cloranfenicol y preparación de la mesa de trabajo.



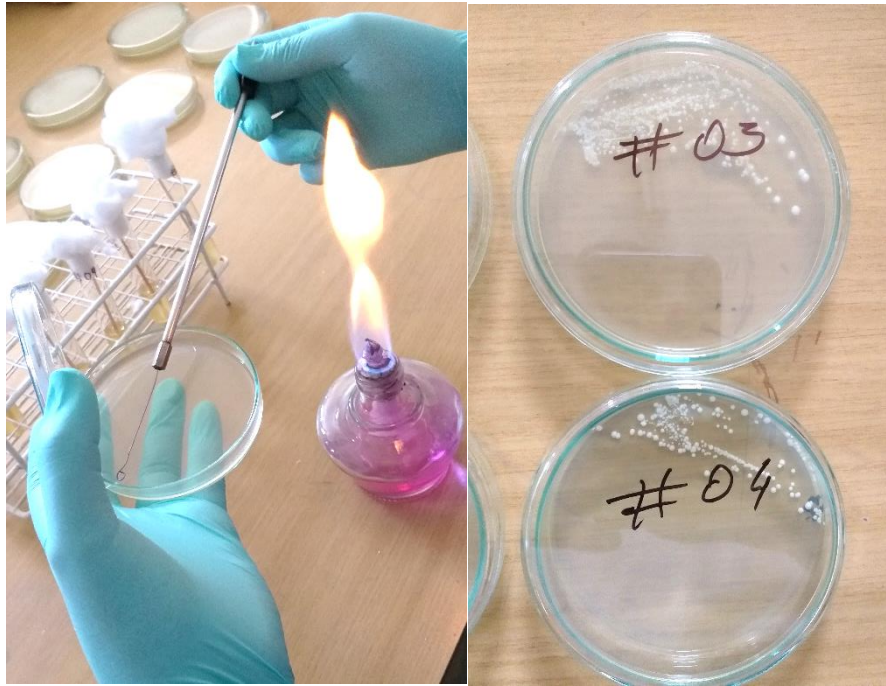
**Fotografía N° 26:** Primeras muestras microbiológicas recolectadas.



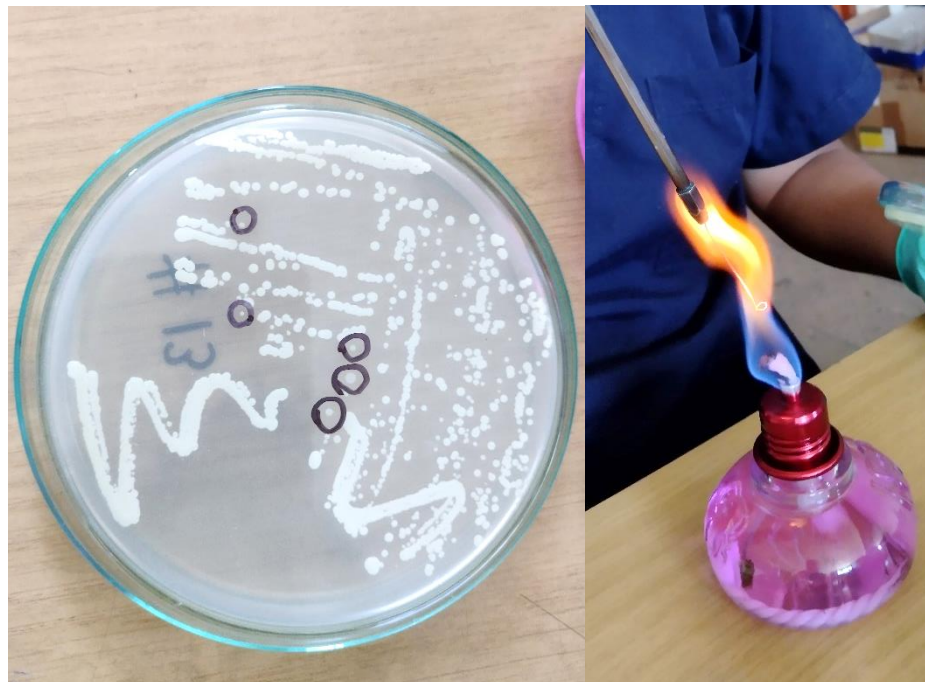
**Fotografía N° 27:** Mezcla de Agar PDA con Cloranfenicol y preparación de las placas de Petri.



**Fotografía N° 28:** Esterilización de asa de Kolle para realizar la siembra.



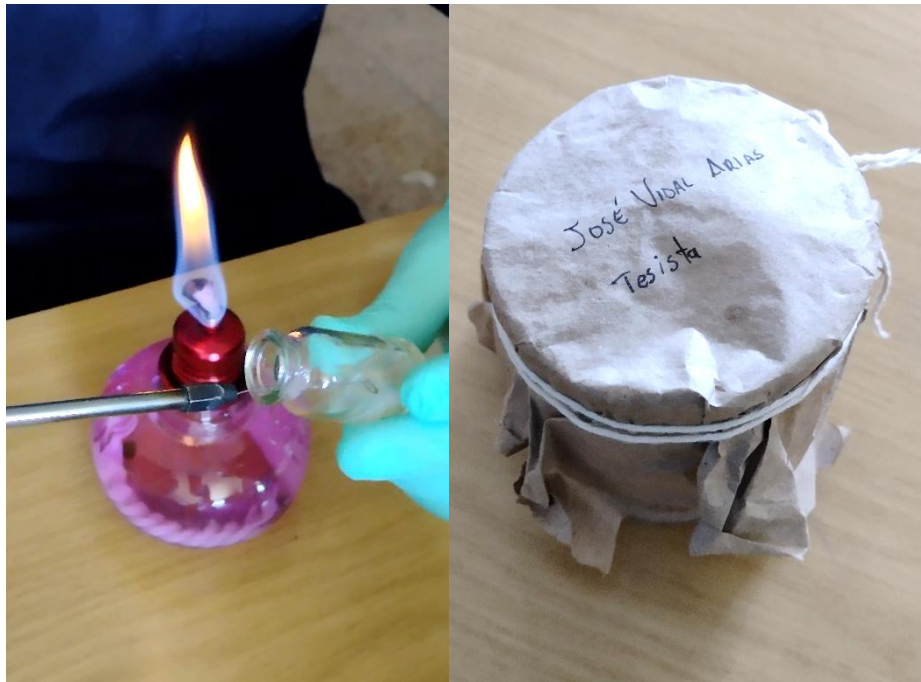
**Fotografía N° 29:** Siembra por estrías en cuatro cuadrantes.



**Fotografía N° 30:** Preparación para el trasplante en agar inclinado.

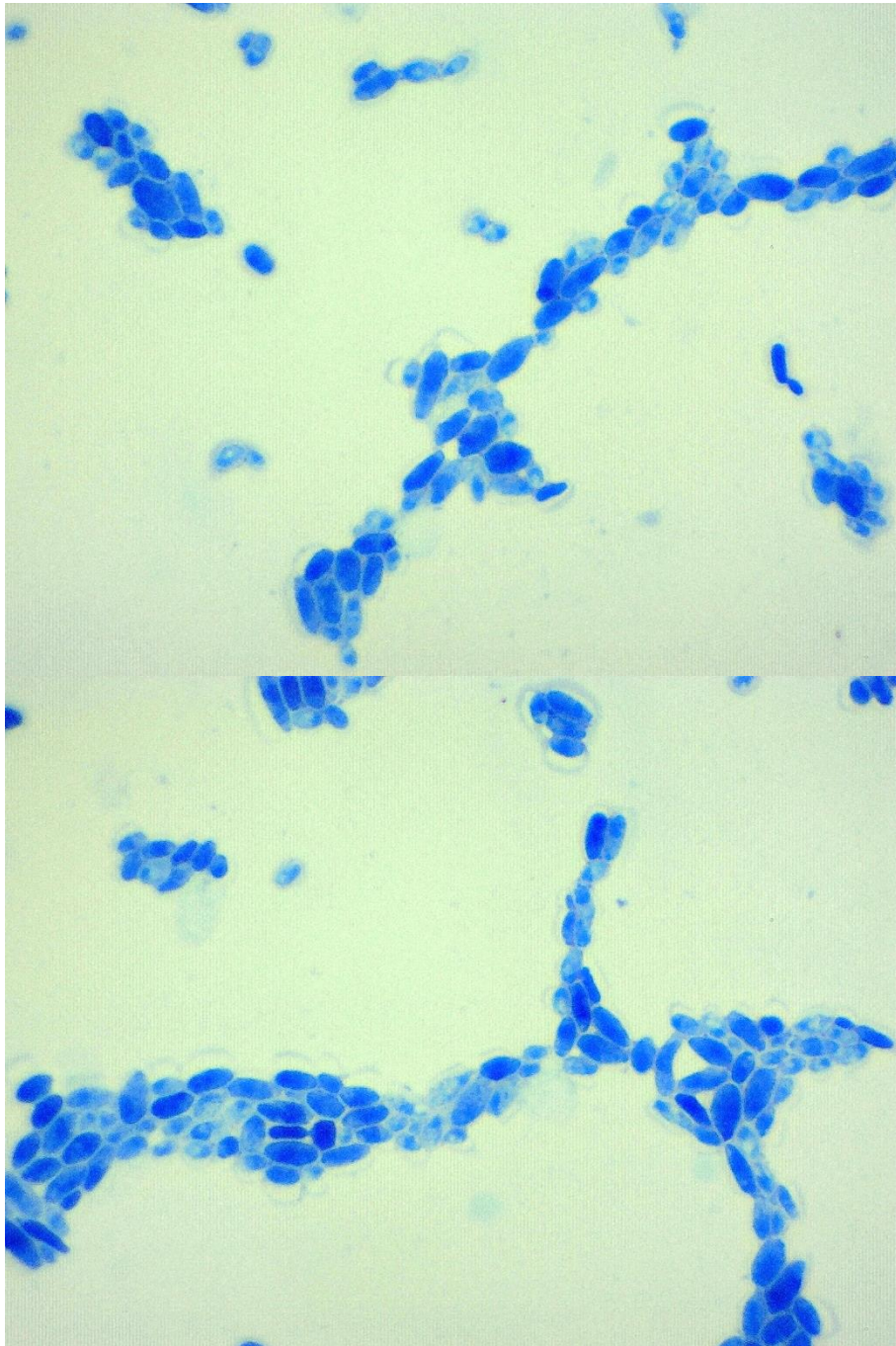


Fotografía Nº 31: Trasplante en agar inclinado o “pico de flauta”.



Fotografía Nº 32: Empaquetado de los viales para su incubación.

TINCIÓN SIMPLE CON AZUL DE METILENO



Fotografía N° 33: Reconocimiento de levaduras del género *Candida*.

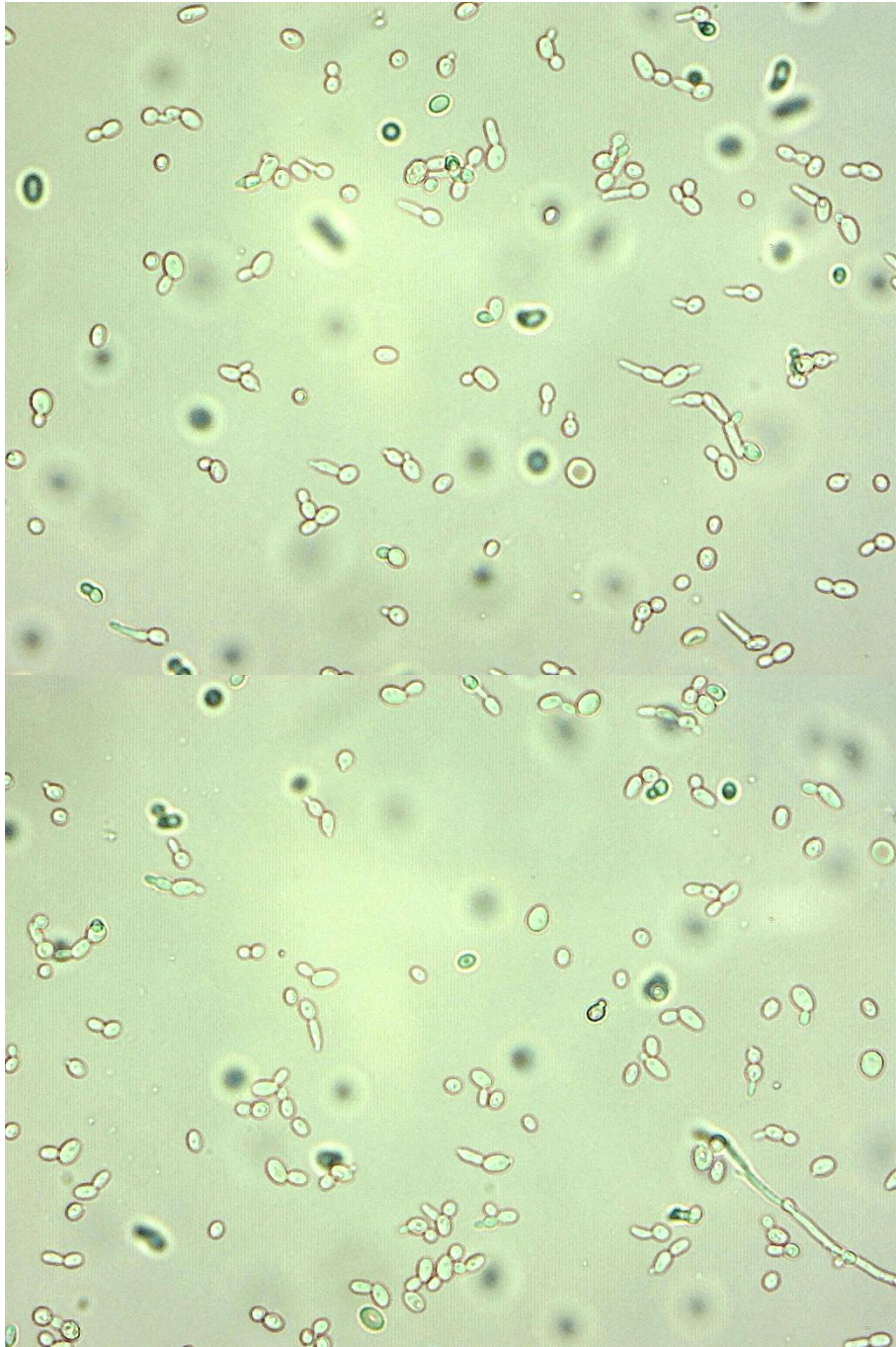
## PRUEBA DE TUBO GERMINATIVO



Fotografía N° 34: Preparación para centrifugado de sangre.



Fotografía N° 35: Centrifugado de sangre y obtención de plasma humano



**Fotografía N° 36:** Reconocimiento de tubo germinativo formado por

***Candida albicans.***

## PREPARACIÓN DE LOS DISCOS DE SENSIBILIDAD ANTIFÚNGICA



**Fotografía N° 37:** Esterilización de discos de sensibilidad en autoclave.



**Fotografía N° 38:** Esterilización de discos de sensibilidad en estufa.

## PREPARACIÓN DE LAS CONCENTRACIONES DETERMINADAS



Fotografía N° 39: Pesado del extracto etanólico para preparación de concentraciones.

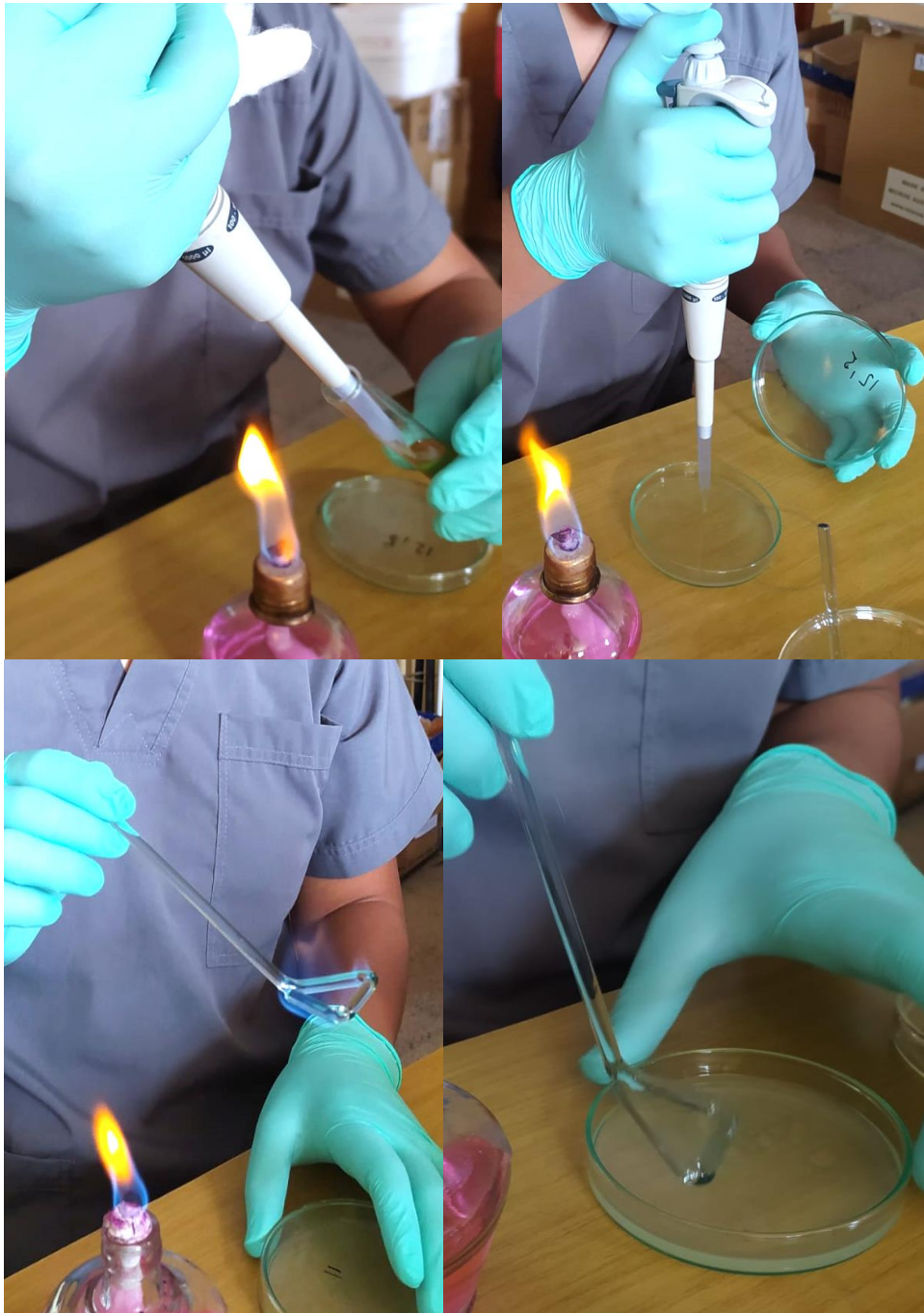


**Fotografía N° 40:** Homogenizado de concentraciones en Vortexer.

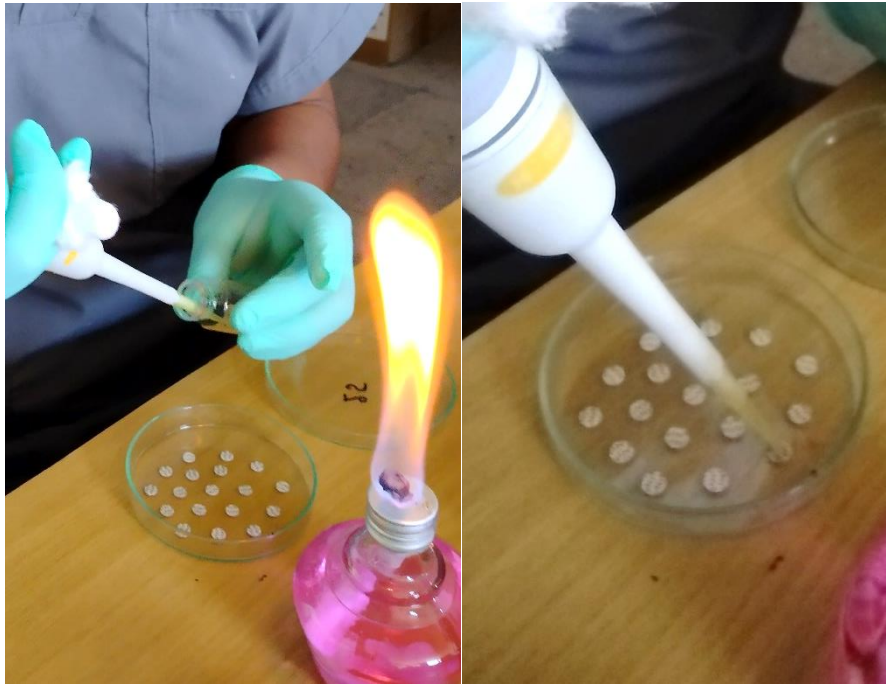


**Fotografía N° 41:** Concentraciones listas para su aplicación.

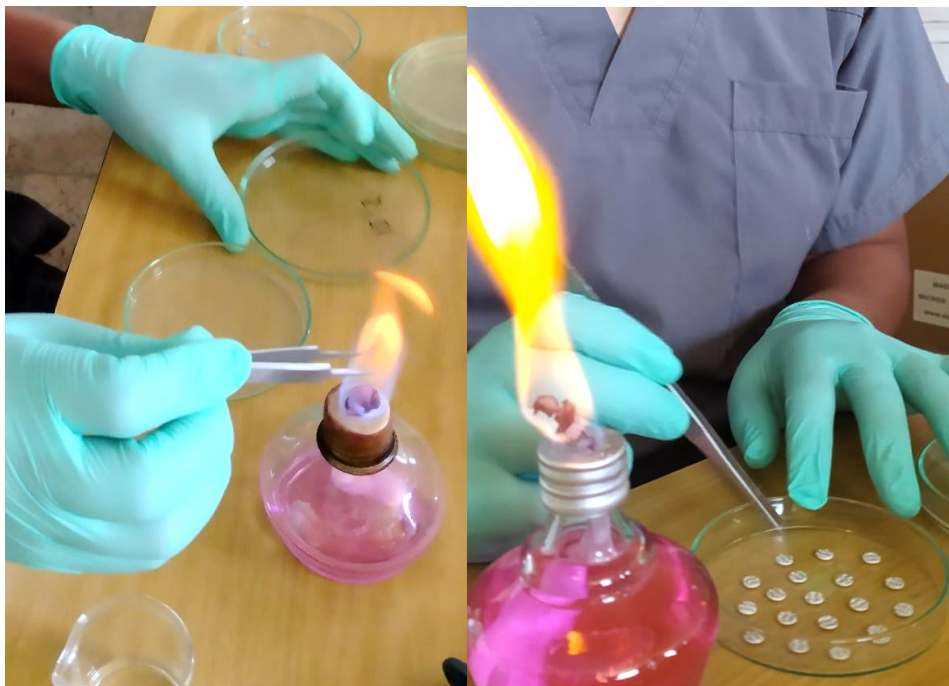
## PRUEBA DE SENSIBILIDAD ANTIFÚNGICA



Fotografía N° 42: Siembra por disseminación.



**Fotografía N° 43:** Impregnación de discos con extracto etanólico.



**Fotografía N° 44:** Colocación de los discos en sus respectivas placas.

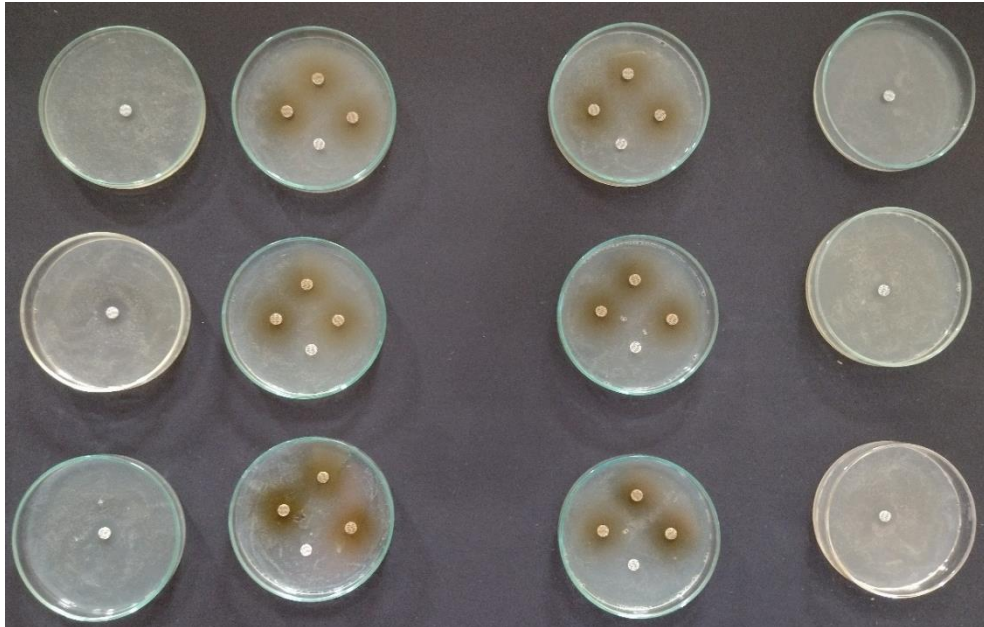


**Fotografía N° 45:** Medición del halo de inhibición producido por el extracto etanólico.

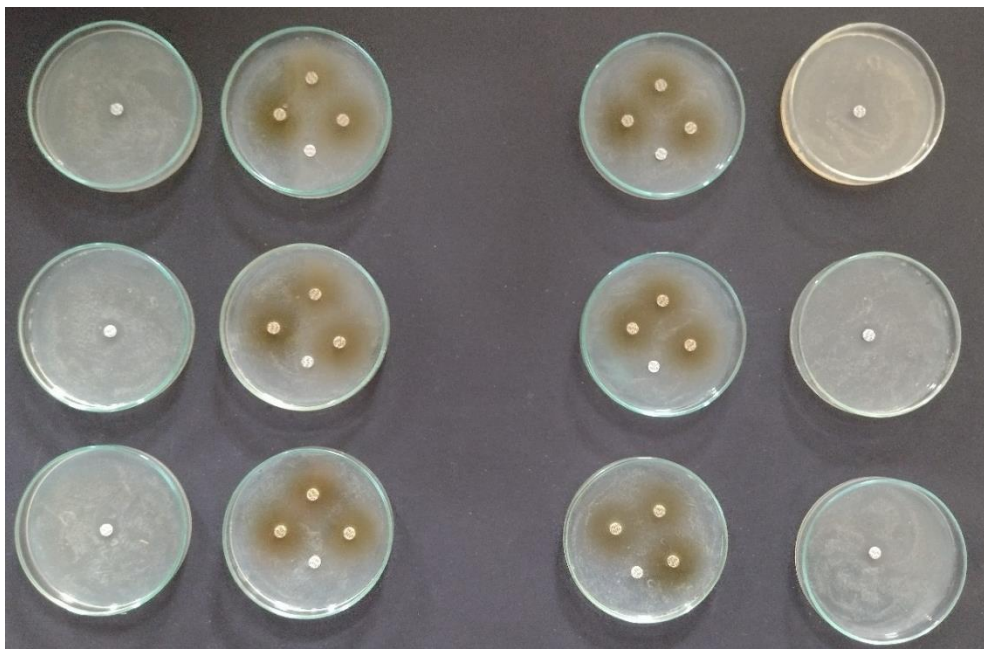


**Fotografía N° 46:** Medición del halo de inhibición producido por la Nistatina.





Fotografía N° 49: "Placas con extracto de *Caesalpinia spinosa* 50 mg/ml".



Fotografía N° 50: "Placas con extracto de *Caesalpinia spinosa* 100 mg/ml".

## DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA



**Fotografía N° 51:** Preparación de solución madre y obtención de turbidez similar al tubo 0.5 de la escala de McFarland.

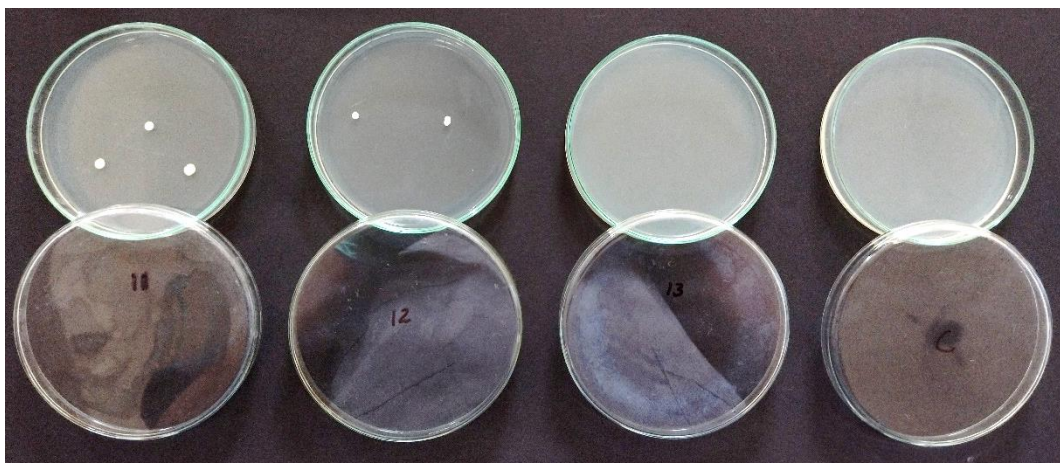


**Fotografía N° 52:** Resultados de la Concentración Mínima Inhibitoria 24 horas después.

## DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA FUNGICIDA



**Fotografía N° 53:** Tres primeros tubos sin turbidez de la prueba anterior.



**Fotografía N° 54:** Resultados de la Concentración Mínima Fungicida 24 horas después.