

UNIVERSIDAD NACIONAL JORGE BASADRE GROHMANN - TACNA

Facultad de Ciencias de la Salud

Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica

EFECTO ANTIMICÓTICO “*in vivo*” DEL UNGÜENTO A
BASE DEL ACEITE ESENCIAL DE *Tagetes minuta*
L. Huacatay FRENTE A *Cándida albicans* ATCC
6538 EN RATAS ALBINAS

TESIS

Presentada por:

Bach. Mery Inés Manuelo Illacutipa

Para optar el Título Profesional de:

QUÍMICO FARMACÉUTICO

TACNA - PERÚ

2020

UNIVERSIDAD NACIONAL JORGE BASADRE GROHMANN – TACNA

Facultad de Ciencias de la Salud
Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica

**EFFECTO ANTIMICÓTICO “*in vivo*” DEL UNGÜENTO
A BASE DEL ACEITE ESENCIAL DE *Tagetes minuta*
L. Huacatay FRENTE A *Cándida albicans* ATCC
6538 EN RATAS ALBINAS**

TESIS

Presentada por:

Bach. MERY INÉS MANUELO ILLACUTIPA

Para optar el Título Profesional de:

QUÍMICO FARMACÉUTICO

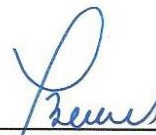
Aprobada por: UNANIMIDAD.....Ante el siguiente jurado.



Dr. Edgard Guido Calderón Copa
Presidente



Dr. Juan José Evaristo Changlío Roas
Miembro



M.Sc. Yemile del Carmen Berrios Espejo
Miembro



Q.F. Juan Carlos Efraín Cervantes Zegarra
Asesor

DEDICATORIA

A Dios, por ser la guía de mi vida, por darme la fortaleza para seguir adelante y no rendirme a pesar de las dificultades.

Al esfuerzo de mis queridos padres Raúl Manuel Choque e Inés Illacutipa Illacutipa, a mis hermanas (os) y a todas las personas que confiaron en mis capacidades y que nunca me dieron la espalda.

Del mismo modo quiero dedicarlo a mis grandes maestros, amigos y amigas con los que he tenido la suerte de encontrarme a lo largo de mi vida.

AGRADECIMIENTO

A Dios, por llenar mi vida de bendiciones.
A mis maestros, por su disposición, ayuda
y por sus conocimientos brindados para
lograr una buena formación profesional.

A mi asesor el Q.F. Juan Carlos Efraín
Cervantes Zegarra, por su apoyo y
consejos en la realización del presente
trabajo. Al Dr. Juan José Evaristo
Changlilio Roas, por su tiempo brindado,
paciencia, dedicación y su valiosa amistad
y asesoría. Una vez más a mis padres,
hermanas, que me han dado su apoyo
incondicional para lograr este objetivo.

ÍNDICE

	Pág.
DEDICATORIA.....	iii
AGRADECIMIENTOS.....	iv
ÍNDICE DE TABLAS.....	ix
ÍNDICE DE GRÁFICOS.....	x
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xi
RESUMEN.....	xiii
ABSTRACT.....	xiv
INTRODUCCIÓN.....	1
 CAPÍTULO I. PLANTEAMIENTO DE LA INVESTIGACIÓN	
1.1. Descripción del problema.....	4
1.2. Formulación del problema.....	6
1.2.1. Problema principal.....	6
1.2.2. Problemas secundarios.....	6
1.3. Justificación del problema.....	6
1.4. Objetivos.....	8
1.4.1. Objetivo General.....	8

1.4.2. Objetivos Específicos.....	9
1.5. Hipótesis.....	9
1.6. Determinación de variables.....	10
1.6.1. Tipos de Variables.....	10
1.6.2. Operacionalización de Variables e Indicadores.....	11
 CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO	
2.1. Antecedentes.....	12
2.1.1. Ámbito Nacional.....	12
2.1.2. Ámbito Internacional.....	17
2.2. Marco conceptual.....	19
2.2.1. <i>Tagetes minuta</i> L.....	19
2.2.2. Aceites esenciales.....	22
2.2.3. <i>Cándida albicans</i>	28
2.2.4. Candidiasis.....	33
2.2.5. Antimicóticos	36
2.3. Definición de términos.....	44

CAPÍTULO III. MARCO METODOLÓGICO

3.1. Tipo y Diseño de la Investigación.....	47
3.1.1. Tipo de Investigación.....	47
3.1.2. Nivel de Investigación.....	48
3.1.3. Diseño de Investigación.....	48
3.2. Población y Muestra	48
3.2.1. Población.....	48
3.2.2. Muestra.....	49
3.3. Materiales de Laboratorio.....	49
3.3.1. Equipos.....	49
3.3.2. Materiales de vidrio	49
3.3.3. Medios de cultivo y reactivos.....	50
3.3.4. Otros.....	50
3.4. Técnica, Instrumentos y Procedimiento de recolección de datos.....	51
3.4.1. Técnica.....	51
3.4.2. Instrumento.....	51

3.4.3. Procedimiento.....	52
3.4.3.1. <i>Tagetes minuta</i> L.....	52
3.4.3.2. <i>Cándida albicans</i>	56
3.4.4. Estudio farmacológico.....	57
3.5. Análisis de datos.....	60
CAPÍTULO IV. RESULTADOS	
DISCUSIÓN	70
CONCLUSIONES	74
RECOMENDACIONES.....	75
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	76
ANEXOS.....	81

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.	Composición fitoquímica del aceite esencial de <i>Tagetes minuta</i> L. “ <i>Huacatay</i> ”.	23
Tabla 2.	Taxonomía de <i>Cándida albicans</i> .	29
Tabla 3.	Clasificación de los antimicóticos.	38
Tabla 4.	Formulación de ungüentos de “ <i>Huacatay</i> ”	55
Tabla 5.	Distribución de la muestra.	57
Tabla 6.	Estadísticos descriptivos del efecto antimicótico del ungüento del aceite esencial <i>Tagetes minuta</i> L. “ <i>Huacatay</i> ” y Clotrimazol 1 %	61
Tabla 7.	Análisis multivariado del efecto antimicótico de Clotrimazol 1 % “ <i>in vivo</i> ” frente a <i>Cándida albicans</i> ATCC 6538 en ratas albinas.	64
Tabla 8.	Análisis multivariado del efecto antimicótico del ungüento de “ <i>Huacatay</i> ” 3 % “ <i>in vivo</i> ” frente a <i>Cándida albicans</i> ATCC 6538 en ratas albinas.	66
Tabla 9.	Análisis multivariado del efecto antimicótico del ungüento “ <i>Huacatay</i> ” 6 % “ <i>in vivo</i> ” frente a <i>Cándida albicans</i> ATCC 6538 en ratas albinas.	68

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1.	Porcentajes de aislamientos de las distintas especies de hongos del género <i>Cándida</i> y otros géneros de levaduras.	33
Gráfico 2.	Intervalo de Confianza del efecto antimicótico del ungüento a base del aceite esencial <i>Tagetes minuta</i> L. “ <i>Huacatay</i> ” y Clotrimazol 1 % “ <i>in vivo</i> ” frente a <i>Cándida albicans</i> ATCC 6538 en ratas albinas	63
Gráfico 3.	Intervalo de confianza del efecto antimicótico de Clotrimazol 1 % “ <i>in vivo</i> ” frente a <i>Cándida albicans</i> ATCC 6538 en ratas albinas.	65
Gráfico 4.	Intervalo de Confianza del efecto antimicótico del ungüento de “ <i>Huacatay</i> ” 3 % “ <i>in vivo</i> ” frente a <i>Cándida albicans</i> ATCC 6538 en ratas albinas.	67
Gráfico 5.	Intervalo de confianza del efecto antimicótico del ungüento “ <i>Huacatay</i> ” 6 % “ <i>in vivo</i> ” frente a <i>Cándida albicans</i> ATCC 6538 en ratas albinas.	69

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1.	Matriz de consistencia: Efecto antimicótico “ <i>in vivo</i> ” del ungüento a base del aceite esencial de <i>Tagetes minuta</i> L. “ <i>Huacatay</i> ” frente a <i>Cándida albicans</i> ATCC 6538 en ratas albinas	82
Anexo 2.	Evaluación antimicótica del ungüento a base del aceite esencial de las hojas de <i>Tagetes minuta</i> L. y Clotrimazol 1 %.	83
Anexo 3.	Susceptibilidad de <i>Cándida albicans</i> frente al tratamiento con Clotrimazol 1 % y ungüentos de <i>Tagetes minuta</i> L. “ <i>Huacatay</i> ” 3 y 6 %.	84
Anexo 4.	Equipo de extracción para el aceite esencial de la planta <i>Tagetes minuta</i> L. “ <i>Huacatay</i> ” mediante el método de arrastre con vapor de agua.	85
Anexo 5.	Elaboración del ungüento del aceite esencial de <i>Tagetes minuta</i> L. “ <i>Huacatay</i> ” 3 y 6 %.	86
Anexo 6.	Cepa micótica en estudio <i>Cándida albicans</i> , proporcionada por el MINSATACNA	87
Anexo 7.	Infección de micosis (<i>Cándida albicans</i>) sobre la piel del animal de laboratorio en estudio (rata albina).	88

Anexo 8.	Tratamiento de la micosis con Clotrimazol 1 % y ungüentos de “ <i>Huacatay</i> ” 3 y 6 %.	89
Anexo 9.	Susceptibilidad de <i>Cándida albicans</i> frente al tratamiento con Clotrimazol 1 % y ungüentos de <i>Tagetes minuta</i> L. “ <i>Huacatay</i> ” 3 y 6 %.	90
Anexo 10.	Susceptibilidad de <i>Cándida albicans</i> frente al tratamiento con Clotrimazol 1 % y ungüentos de <i>Tagetes minuta</i> L. “ <i>Huacatay</i> ” 3 y 6 %	91

RESUMEN

El estudio estuvo orientado en evaluar el efecto antimicótico del ungüento a base del aceite esencial de *Tagetes minuta* L. “*Huacatay*” en lesiones de piel provocadas por *Cándida albicans* en ratas albinas. Se obtuvo el aceite esencial de las hojas del “*Huacatay*” mediante destilación por arrastre de vapor. Se diseñó y se elaboró un ungüento con su aceite esencial. Se intervinieron 25 ratas albinas y se dividieron en 5 grupos para aplicar el fitofármaco tópico en concentraciones de 3 y 6 %, el Clotrimazol al 1 % y un grupo control. Se evaluó el efecto antimicótico por medio del cultivo en placas de Agar Sabouraud. Se demostró que el ungüento a base del aceite esencial presenta efecto antimicótico, así como el Clotrimazol al 1 % para tratar micosis producida por la *Cándida albicans* presentando mejora en la piel afectada, disminución de escamas. Los resultados fueron corroborados con el cultivo en Agar Sabouraud. En el presente trabajo se puede concluir que el ungüento de “*Huacatay*” a base de su aceite esencial presentó efecto antimicótico.

Palabras clave: *Tagetes minuta* L, aceite esencial, *Cándida albicans*.

ABSTRACT

The study was aimed at assessing the antifungal effect of ointment based on the essential oil of *Tagetes minuta* L. "Huacatay" in skin lesions caused by *Cándida albicans* in albino rats. The essential oil was obtained from the leaves of the "Huacatay" by steam distillation. An ointment was designed and made with its essential oil. 25 albino rats were intervened and divided into 5 groups to apply the topical phytopharmaceutical in concentrations of 3 and 6 %, 1 % Clotrimazole and a control group, the antifungal effect was evaluated by cultivation in Sabouraud agar plates, it was demonstrated that the essential oil based ointment has an antifungal effect, as well as 1 % Clotrimazole to treat mycosis produced by *Cándida albicans* presenting improvement in the affected skin, reduction of scales. The results were corroborated with the Sabouraud agar culture. In the present work, it can be concluded that the ointment of "Huacatay" based on its oil Essential presented antifungal effect.

Keywords: *Tagetes minuta* L, essential oil, *Cándida albicans*.

INTRODUCCIÓN

La candidiasis es una micosis causada por diversas especies de levaduras del género *Cándida*, cada uno de ellos asociado directamente al estado inmunológico del paciente, en mucosas y piel son las más frecuentes; mientras que las sistémicas son de evolución aguda o crónica y generalmente severas ¹.

La distribución geográfica de esta micosis es universal y más de 70 % de ellas son producidas por *Cándida albicans*. Los casos registrados de candidiasis muestran que el sexo no influye en la frecuencia, a excepción de la urogenital que tiene mayor incidencia en el sexo femenino. La edad y raza de las personas son factores que, según la clínica, no influyen en la presentación de la micosis, se considera que algunas actividades de las personas pueden favorecer la infección ¹.

En los últimos años se ha presentado un incremento en la incidencia de enfermedades fúngicas debido al uso indiscriminado de antibióticos, corticoides y al incremento del número de pacientes inmunocomprometidos, y esto debido a muchos factores como el tratamiento antineoplásico (quimioterapia, radioterapia), trasplantes de

médula ósea y órganos sólidos, el número de pacientes que requieren cuidado intensivo, y al número de pacientes con VIH / Sida ².

Los fármacos disponibles actualmente, tienen una toxicidad importante, producen recurrencia o causan resistencia, razón por la cual se está procurando descubrir nuevos agentes antifúngicos más potentes, pero sobre todo seguros ². Desde la antigüedad las plantas son consideradas un alto potencial terapéutico para el tratamiento de diversas enfermedades infecciosas; La medicina tradicional a base de plantas medicinales es una realidad presente en todo el mundo ⁴ y se convierte en una alternativa terapéutica para patologías específicas por su bajo costo y fácil acceso a la población de bajos recursos económicos ².

El Perú es un país rico en recursos naturales y dicha riqueza se ve en la gran biodiversidad de su flora, por lo tanto, razones sobran para maximizar el aprovechamiento sostenible de nuestros recursos naturales, previamente validados científica y tecnológicamente con los respectivos estudios. Entre estas plantas medicinales se encuentra la *Tagetes minuta* L. conocida popularmente como “*Huacatay*”, es una especie nativa del sur de Sudamérica.

Considerando que se le atribuye efecto antifúngico al aceite esencial, se desarrolla el presente trabajo de investigación a fin de

demostrar el efecto antimicótico *“in vivo”* del ungüento a base del aceite esencial de *Tagetes minuta* L. *“Huacatay”* frente a *Cándida albicans* practicada en ratas albinas de experimentación, la cual servirá de base para futuros estudios.

CAPÍTULO I

PLANTEAMIENTO DE LA INVESTIGACIÓN

1.1. Descripción del problema

La frecuencia de infecciones invasoras causadas por *Cándida* ha aumentado en forma importante en las últimas décadas, constituyendo actualmente la candidiasis un importante agente de infección ⁵.

Podemos decir que la incidencia anual de las infecciones fúngicas, dependiendo del tipo de infección e investigación realizada ha aumentado de 3 a 20 veces a partir de la década del 70 ⁶.

En Perú se han realizado pocos estudios sobre candidiasis, uno realizado en un hospital nacional de alta complejidad de Lima (2004 - 2006), reveló que el género *Cándida* se encontró en el 11,6 % de las muestras de hemocultivo de pacientes de UCI. Otro realizado en nueve hospitales de Lima (2009 - 2011), reportó 153 especies del género *Cándida* que causaron candidiasis y uno realizado en tres hospitales de Lima y Callao (2013 al 2015) reportó 158 aislamientos y

una incidencia en el centro entre 1 y 2,6 casos por 1000 ingresos ⁶;
Entre los factores de riesgo que propician la candidiasis se incluyen la terapia antibiótica de amplio espectro, la permanencia en la UCI por más de 72 horas, la terapia inmunosupresora, la nutrición parenteral y los procedimientos médicos invasivos múltiples.

El uso de la medicina tradicional ha sido reconocido por la Organización Mundial de la Salud debido a su importancia en los sistemas de salud en muchos países en vías de desarrollo, instando a los estados a hacer estudios de las plantas medicinales utilizadas por los curanderos tradicionales y la población para determinar aquellos que tengan un efecto satisfactorio, de manera de incluirlas en la farmacopea Nacional ⁷.

Considerando que la incidencia por infección de Cándida está elevándose, y la necesidad de tener alternativas terapéuticas con efectos eficaces y seguros. fue objetivo del presente trabajo, a fin de emplear agentes antimicóticos naturales y de esta manera reducir el uso y abuso de los fármacos tradicionales que muchas veces hacen resistencia por un mal empleo.

1.2. Formulación del problema

Problema principal

- ¿Cuál es el efecto antimicótico “*in vivo*” del ungüento a base de aceite esencial de *Tagetes minuta* L. frente a *Cándida albicans* ATCC 6538 en ratas albinas?

Problemas secundarias

- ¿A qué concentración puede elaborarse el ungüento a base del aceite esencial de *Tagetes minuta* L. para su aplicación tópica?
- ¿Cuál será el resultado del efecto antimicótico del ungüento a base del aceite esencial de *Tagetes minuta* L. mediante la evaluación en agar Sabouraud?
- ¿Qué relación existe entre las concentraciones del grupo experimental con el grupo positivo?

1.3. Justificación del problema

Las constantes apariciones de cepas resistentes a los antifúngicos convencionales es preocupante y es por ello que se recurre a la búsqueda de nuevas alternativas eficaces y seguras provenientes de productos naturales, la candidiasis, mayormente causada por *Cándida albicans*, es una patología que en la actualidad está experimentando un incremento en la frecuencia de su aparición

no sólo en pacientes inmunosuprimidos y hospitalizados, sino también en aquellos en los que las circunstancias medio ambientales los exponen.

Existen aproximadamente 163 especies pertenecientes al género *Cándida* y 10 de ellas son responsables de la mayoría de las infecciones fúngicas, siendo *Cándida albicans* la especie más importante, microorganismos que llegan a colonizar mucosas del tracto intestinal (50 a 70 %), boca (30 a 50 %), vagina (5 a 30 %) y piel (4 a 7 %).

En la actualidad existe gran interés por la medicina tradicional que ha generado numerosos estudios, divulgados en prestigiosas publicaciones. Pero, hay poco uso de medicamentos de origen vegetal por parte de los profesionales de la salud; sus tratamientos están basados únicamente en fármacos sintéticos, incluso, en el tratamiento de problemas de salud diagnosticados como enfermedad leve. Para el caso de las poblaciones rurales, el acceso a los medicamentos farmacológicos se torna restringido por múltiples razones, como el traslado a una farmacia, los costos altos, los

aspectos culturales, el difícil acceso a centros de salud, entre otros, optando siempre por la medicina herbaria que está a su alcance ⁸.

A esto se suma, el uso masivo de antifúngicos tanto en forma preventiva como terapéutica, lo que ha originado la aparición de resistencias secundarias y probablemente el desplazamiento de cepas sensibles por otras más resistentes.

Por ello, existe el interés en ejecutar el presente trabajo; de elaborar un ungüento a base del aceite esencial de *Tagetes minuta* L. y demostrar su efecto antimicótico frente a *Cándida albicans*; de esta manera se contribuirá con nuevas alternativas naturales para combatir las diversas afecciones de este hongo, el cual también resulta más accesible económicamente frente al tratamiento convencional.

1.4. Objetivos de la investigación

1.4.1. Objetivo general

- Evaluar el efecto antimicótico “*in vivo*” del ungüento a base del aceite esencial de *Tagetes minuta* L. frente a la *Cándida albicans* ATCC 6538 en ratas albinas.

1.4.2. Objetivos específicos

- Elaborar el ungüento a base del aceite esencial de las hojas de *Tagetes minuta* L. a dos concentraciones para su aplicación tópica.
- Evaluar la efectividad del ungüento a base del aceite esencial de las hojas de *Tagetes minuta* L. mediante el recuento de colonias (UFC) en agar Sabouraud.
- Comparar el efecto antimicótico sobre la *Cándida albicans* ATCC 6538 del ungüento de Huacatay al 3 y 6 % frente al Cotrimazol.

1.5. Hipótesis

1.5.1. Hipótesis general

El ungüento a base del aceite esencial de las hojas de *Tagetes minuta* L. “Huacatay” tiene efecto antimicótico en lesiones de piel producida por *Cándida albicans* en ratas albinas.

1.6. Determinación de variables

1.6.1. Tipos de variables

- **Variable independiente**

Efecto antimicótico del ungüento a base del aceite esencial de las hojas de *Tagetes minuta* L

- **Variable dependiente**

Cándida albicans

1.6.2. Operacionalización de variables

Variable	Definición Conceptual	Definición Operacional	Dimensión	Indicador	Criterio de Medición	Escala
Variable Independiente Efecto antimicótico del ungüento a base del aceite esencial de <i>Tagetes minuta</i> L.	Sustancia capaz de producir una alteración de las estructuras de una célula fúngica que consiga inhibir su desarrollo, alterando su viabilidad o capacidad de supervivencia directa o indirectamente.	Capacidad del ungüento de "Huacatay" de inhibir el crecimiento micótico que se desarrolla sobre la piel lesionada.	Efecto antimicótico	Presencia de colonias	UFC (Agar Sabouraud)	Ordinal
				Ausencia de colonias		
			Ungüento de Huacatay	3 %	Tiempo de aplicación (15 días)	
	6 %					
Variable Dependiente <i>Cándida albicans</i> ATCC 6538	Hongo dimórfico que se desarrolla de forma distinta en función de la temperatura de crecimiento.	Especie micótica que desempeña un papel preponderante en el desarrollo de la micosis.	Cepa <i>Cándida albicans</i>	Crecimiento micótico	Observacional	Nominal
		Tratamiento		Piel escamosa		

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes de la investigación

2.1.1. Ámbito nacional

Mendoza J et al ⁹, el año 2019 en Trujillo realizaron el trabajo de investigación titulado: “*Características fisicoquímicas del aceite esencial y determinación del porcentaje relativo de sus componentes hidrocarbonados y oxigenados de la hoja de Tagetes minuta L. (Huacatay) – Universidad Nacional de Trujillo 2019*”. Mediante el cual buscaron determinar las características fisicoquímicas del aceite esencial y el porcentaje relativo de sus componentes hidrocarbonados y oxigenados, las características fisicoquímicas obtenidas fueron, densidad relativa 0,8373; índice de refracción 1,4960 y pH 5. Carece de solubilidad en el agua y es completamente soluble en hexano, cloroformo y éter de petróleo con respecto a la solubilidad en los alcoholes se pudo observar que a menor grado alcohólico menor es la solubilidad, siendo completamente soluble en alcohol de 96 °C.

El porcentaje relativo de componentes hidrocarbonados determinado fue 15,25 % y el porcentaje de compuestos oxigenados fue 41,99 %.

Aguilar D ¹⁰, en el año 2015 en Trujillo, realizó un trabajo de investigación titulada: "*Efecto del extracto etanólico de Tropaeolum majus "mastuerzo" sobre micosis inducida por Trychophyton mentagrophytes en Rattus norvegicus. Trujillo 2015*". Se evaluó el efecto del extracto etanólico de *Tropaeolum majus "mastuerzo"* sobre la micosis inducida por *Trychophyton mentagrophytes* en *Rattus norvegicus*. El modelo experimental incluyó 21 especímenes, a los cuales se les indujo una infección micótica mediante modelo de infección superficial en piel; posteriormente al desarrollo de ésta, se dividieron aleatoriamente en tres grupos de 7 especímenes cada uno; siendo tratados con placebo (control), ungüento preparado con el extracto etanólico de *Trapaeolum majus "mastuerzo"* al 0,4 % y Terbinafina al 1 %, durante 30 días consecutivos, respectivamente. Se realizó el análisis estadístico el cual concluyó que el extracto etanólico de *Trapaeolum majus "mastuerzo"* posee un efecto antimicótico

sobre la micosis inducida por *Trychophyton mentagrophytes* en *Rattus norvegicus* ($p < 0,05$), pudiendo ser una alternativa segura para tratamiento tópico de tiña.

Pure N ¹¹, el año 2018 en Lima, realizó la tesis para optar el título profesional de Químico Farmacéutico, denominada: “Efecto de la concentración del aceite esencial de las hojas del *Tagetes minuta* L. sobre su actividad antimicrobiana”. Mediante el cual se buscó determinar el efecto de la concentración del aceite esencial de las hojas de *Tagetes minuta* L. (Huacatay) sobre su actividad antimicrobiana frente a cepas ATCC. El resultado de la investigación reveló que el aceite esencial en concentraciones al 100, 75, 50 y 25 % presentaron actividad antimicrobiana frente a *Escherichia coli* ATCC 8739 mostrando halos de inhibición con un promedio de 19,22; 17,14; 16,49 y 12,44 mm y frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 con promedios de 27,29; 24,82; 22,18 y 14,73 mm, respectivamente. Se concluye que el aceite esencial de *Tagetes minuta* L. presenta actividad antimicrobiana frente a las bacterias estudiadas; lo cual podría deberse a los metabolitos secundarios que contiene.

Tuyo L ¹², el año 2015 en Tacna, realizó la tesis para optar el título profesional de Químico farmacéutico denominada: “*Efecto de la actividad antimicótica “in vitro” del aceite esencial de Tagetes minuta L. frente a Cándida albicans – Tacna, 2015*”. Evaluó la actividad antimicótica “*in vitro*” del aceite esencial de *Tagetes minuta L.* frente a la *Cándida albicans*”, investigación en la que se pidió determinar la actividad antimicótica del aceite esencial de esta planta mediante la obtención de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y la Concentración Mínima Fungicida (CMF) obteniéndose de esta manera la Concentración Mínima los resultados del MIC en el caso de *Cándida albicans* fue de 2,8728 mg/ml. Además, la CMF para esta levadura es de 3,2886 mg/ml, en la que no se evidenció crecimiento alguno. Se concluye que el aceite esencial de *Tagetes minuta L.* presentó compuestos bioactivos, principalmente monoterpenos, con efecto antimicótico “*in vitro*” frente a la levadura *Cándida albicans*.

Vargas A ¹³, en el año 2013 en Trujillo, realizó la tesis para optar el título profesional de Biólogo – Microbiólogo

denominada: “Efecto antibacteriano del aceite esencial de *Tagetes minuta*, sobre el crecimiento de *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi* y *Bacillus cereus* – Trujillo Perú”. Mediante el cual se buscó determinar la actividad antibacteriana del aceite esencial de *Tagetes minuta* —Huacatay frente a *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* y *Salmonella typhi*. La actividad antibacteriana se determinó por el método de difusión en agar, en el cual se observa que *S. aureus* a la concentración de aceite esencial de 5 % forma un halo de inhibición de 17,72 mm y al 10 % de 22,97 mm; y para *B. cereus* el promedio del diámetro del halo de inhibición del crecimiento al 5 y 10 % de aceite esencial de *Tagetes minuta* L. son 28,55 y 39,62 mm respectivamente. Así mismo para *S. typhi* el halo de inhibición del crecimiento producido por el aceite esencial de *T. minuta* al 5 % es de 17,78 y 24,28 mm al 10 %. Para los tres microorganismos ensayados a medida que se incrementa el porcentaje de aceite esencial aumentan los halos de inhibición. La concentración mínima inhibitoria del aceite esencial de *Tagetes minuta* se determinó por el método de dilución en agar, siendo para *S. aureus* de 1,25 µL/mL, mientras que para *B. cereus* y *S. typhi* es de 2,5 µL/mL. Por lo

tanto; el presente estudio permite afirmar que el aceite esencial de *Tagetes minuta*, obtenido mediante el método de destilación por arrastre de vapor; posee efecto antibacteriano sobre *S. aureus*, *B. cereus* y *S. typhi*.

2.1.2. Ámbito internacional

Giacone L ¹⁴, en el año 2019 en Argentina, realizó una investigación titulada: “*Estudio de Tagetes minuta L. como fuente de moléculas fotosensibilizantes para aplicación en quimioterapia antifúngica fotodinámica*”, en la Universidad Nacional de Rosario, 2019. Debido a que se ha reportado la presencia de CF en las especies del género *Tagetes*, se postuló como objetivo obtener distintos extractos de *Tagetes minuta* para evaluar su actividad antifúngica frente a cinco especies del género *Cándida*. Se evaluaron 17 extractos, de los cuales 10 resultaron activos, detectándose Concentraciones Inhibitorias Mínimas en luz de entre 62.50 y 0,49 µg/mL. Los extractos más activos fueron los de raíz, los cuales se seleccionaron para evaluar su acción frente a los factores de virulencia de *Cándida*. Se observó inhibición de la formación de tubo germinativo y disminución en la adherencia

a células epiteliales, como también acción antifúngica contra biofilm. La baja concentración de los extractos seleccionados que se requiere tanto para matar como para reducir el efecto de los factores de virulencia, tan importantes en la colonización e invasión del huésped, proporcionan evidencia de potenciales antifúngicos naturales que podrían constituir una alternativa interesante para los tratamientos de candidiasis utilizando la terapia fotodinámica.

Cussa L ¹⁵, en el año 2017 en Argentina, realizó un trabajo de investigación titulado, "*Toxicidad del aceite esencial de Tagetes minuta L. (asteraceae) obtenido de poblaciones silvestres y cultivadas*", el objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto citotóxico y genotóxico in vitro del aceite esencial de *T. minuta L.* Los Aceites esenciales fueron obtenidos de plantas cultivadas y Aceite esencial, obteniéndose la concentración citotóxica media (CC₅₀) (R² > 0,9). Los valores de CC₅₀ fueron de 17,74 ± 0,92 ppm en células Vero y 16,15 ± 0,51 ppm en fibroblastos para el AE de la población silvestre; 13,39 ± 0,98 ppm para las células Vero y 35,42 ± 0,67 ppm para los fibroblastos para el quimiotipo DHT; y el quimiotipo Ona

presentó los menores valores de citotoxicidad y en consecuencia resultó ser el más citotóxico, con una CC_{50} de $8,03 \pm 0,37$ ppm para células Vero y de $10,77 \pm 0,61$ ppm para fibroblastos. Para determinar genotoxicidad se realizaron los ensayos de Micronúcleos (MN) y Fragmentación de ADN en gel de agarosa, utilizando la Máxima Concentración no Citotóxica (MCNC) o CC_{10} de cada AE, incluido el AE de Peperina y Pulegona pura. Los ensayos realizados demostraron que los AEs no generan/provocan daño genotóxico in vitro. Estos resultados producen alerta por la alta citotoxicidad in vitro de los AEs de *Tagetes minuta* L., particularmente del quimiotipo Ona.

2.2. Marco conceptual

2.2.1. *Tagetes Minuta* L

Tagetes minuta L, conocido comúnmente en el Perú como “*Huacatay*”, es una hierba anual de la familia de las *Asteráceas*, erecta puede alcanzar hasta 50 cm de alto; tiene hojas lanceoladas, dentadas y un olor fuerte. Es producido en la costa, sierra y Amazonía del Perú ¹⁶.

2.2.1.1. Taxonomía

Reino	: Plantae
División	: Magnoliophyta
Clase	: Magnoliopsida
Orden	: Asterales
Familia	: Asteraceae
Sub Familia	: Asteroideae
Tribu	: Tageteae
Género	: Tagetes
Especie	: <i>T. minuta</i>
Nombre binomial	: <i>Tagetes minuta</i> Linnaeus

Fuente. Biocomercio de Fragancias, Sabores y Fitocosméticos. Lima: Concytec 2011.

2.2.1.2. Morfología de *Tagetes minuta* L.

Flores, liguladas de 1 a 3, ovadas a elípticas de 0,1 a 0,2 cm de largo. Flores del disco de 3 a 5, corola de 0,3 a 0,4 cm de largo. Vilano (cáliz modificado) 1 ó 2 de escamas subuladas (angostamente triangular) de 0,2 a 0,3 cm de largo, amarillentos, externamente pilosos y dimorfos.

Hojas, son un poco verde brillante, y son pinado disecados en 4 a 6 pares de pinnas, los márgenes de las hojas están finamente aserrados, las superficies

inferiores de las hojas tienen una serie de pequeñas glándulas puntiformes, pluricelulares.

Tallo, es erecto, en el promedio de 0,3 a 1,3 m de altura, bifurcada y surcada.

Frutos y semillas: el fruto es una cápsula (fruto simple, seco que abre al madurar) desde 0,45 hasta 0,7 cm de largo. La planta se propaga por semillas. Éstas requieren luz para germinar, su temperatura óptima es de 25 °C ¹⁷.

2.2.1.3. Composición química

El “*Huacatay*” contiene aceite esencial que está constituido por monoterpenos como: β -pineno, limoneno, 2-fenilpropil butirato, 1-Deceno, Undecano, 1-Dodeceno, 2-Undecenal (Aldehído) ¹⁸.

2.2.1.4. Propiedades medicinales

A “*Huacatay*” se le atribuye propiedades medicinales como digestivo, carminativo y antiabortivo. La infusión de sus hojas se usa para aliviar los dolores gástricos y la decocción de sus flores y hojas frescas

para aliviar los catarrros y bronquitis. De sus hojas se extrae un aceite esencial utilizado en perfumería y aromaterapia. También puede ser usado como pesticida (nematicida)¹⁹.

2.2.2. Aceites esenciales

2.2.2.1. Definición

Generalmente, son mezclas complejas de hasta más de 100 componentes que pueden ser: Compuestos alifáticos de bajo peso molecular (alcanos, alcoholes, aldehídos, cetonas, ésteres y ácidos), Monoterpenos, Sesquiterpenos y Fenilpropanos. En su gran mayoría son de olor agradable, aunque existen algunos de olor relativamente desagradable ²⁰.

La obtención de los aceites esenciales es realizada comúnmente por la tecnología llamada destilación por arrastre con vapor, en sus diferentes modalidades. La pureza y el rendimiento del aceite

esencial dependerán de la técnica que se utilice para el aislamiento ²⁰.

Tabla 1. Composición fitoquímica del aceite esencial de *Tagetes minuta* L. “Huacatay”

ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICO		
ANÁLISIS	RESULTADO	%
	Beta-pinene	1,54
	1-Decene	4,25
	Undecane	3,8
Determinación cuantitativa de metabolitos secundarios (%)	Limoneno	3,47
	Undecane	2,33
Cromatografía Gaseosa como detección de masas, método de cuantificación por normalización interna.	2-Phenylpropyl butyrate	1,7
	Undecane	6,27
	1-Octanol, 2-methyl-	1,37
	Octyne-3,6-diol	1,68
	Nonane, 5-butyl-	1,38
	1-Dodecene	17,76
	Dodecane	3,09
	Bicyclo (3,1,1) heot-3-en-2-one,	
	4,6	5,31
	2-Decenal, (E)-	1,2

Fuente: Universidad Católica Santa María – Arequipa, Laboratorio de Ensayo y Control de Calidad.

2.2.2.2. Clasificación

Se clasifican en diferentes criterios: consistencia, origen y naturaleza química de los componentes mayoritarios. De acuerdo con su consistencia los aceites esenciales se clasifican en esencias fluidas, bálsamos y oleorresinas.

- **Las esencias fluidas**, son líquidos volátiles a temperatura ambiente.
- **Los bálsamos**, son de consistencia más espesa, son poco volátiles propensos a sufrir reacciones de polimerización, son ejemplos el bálsamo de copaiba, el bálsamo del Perú, Benjuí, bálsamo de Tolú, Estoraque, etc.
- **Las oleorresinas**, tienen el aroma de las plantas en forma concentrada y son típicamente líquidos muy viscosos o sustancias semisólidas (caucho, gutapercha, chicle, balata, oleorresina de páprika, de pimienta negra, de clavel, etc.)²⁰.

De acuerdo a su origen los aceites esenciales se clasifican como naturales, artificiales y sintéticos.

Los aceites esenciales naturales se obtienen directamente de la planta y no sufren modificaciones físicas ni químicas posteriores, debido a su rendimiento tan bajo son muy costosos.

Los aceites esenciales artificiales se obtienen a través de procesos de enriquecimiento de la misma esencia con uno o varios de sus componentes, por ejemplo, la mezcla de esencias de rosa, geranio y jazmín enriquecidas con linalol (terpeno), o la esencia de anís enriquecida con anetol.

Los aceites esenciales sintéticos como su nombre lo indica son los producidos por la combinación de sus componentes los cuales son la mayoría de las veces producidos por procesos de síntesis química ²⁰.

2.2.2.3. Empleo de los aceites esenciales

Industria farmacéutica. Se usan en cremas dentales (aceite de menta e hinojo), analgésicos e inhalantes para descongestionar las vías respiratorias (eucalipto). El eucaliptol es muy empleado en odontología. Son utilizados en la fabricación de neutralizantes de sabor

desagradable de muchos medicamentos (naranjas y menta, entre otros).

Industria de cosméticos. Esta industria emplea los aceites esenciales en la producción de cosméticos, jabones, colonias, perfumes y maquillaje. En este campo se pueden citar los aceites de geranio, lavanda y rosas.

2.2.2.4. Empleo de los aceites esenciales

Los aceites esenciales se pueden extraer de las muestras vegetales mediante varios métodos como son: expresión, destilación con vapor de agua, extracción con solventes volátiles y enflorado o enfleurage y con fluidos supercríticos.

Método de la expresión. En la expresión (acto de exprimir), el material vegetal es exprimido para liberar el aceite y éste es recolectado y filtrado. Este método es utilizado para el caso de las esencias de cítricos ²⁰.

Método de la destilación por arrastre con vapor de agua. La muestra La muestra vegetal, generalmente seca y cortada en trozos pequeños, es encerrada en una cámara inerte y sometida a una corriente de vapor

de agua sobrecalentado, la esencia así arrastrada es posteriormente condensada, recolectada y separada de la fracción acuosa. Esta técnica es muy utilizada especialmente para esencias fluidas, especialmente las utilizadas para perfumería. Se utiliza a nivel industrial debido a su alto rendimiento, la pureza del aceite obtenido y porque no requiere tecnología sofisticada ¹³.

Método de la extracción con solventes volátiles.

La muestra seca y molida se pone en contacto con solventes tales como alcohol, cloroformo, etc. Estos solventes solubilizan la esencia, pero también solubilizan y extraen otras sustancias tales como grasas y ceras, obteniéndose al final una esencia impura. Se utiliza a escala de laboratorio pues a nivel industrial resulta costoso por el valor comercial de los solventes, porque se obtienen esencias impurificadas con otras sustancias, y además por el riesgo de explosión e incendio característicos de muchos solventes orgánicos volátiles ²⁰.

2.2.3. *Cándida albicans*

2.2.3.1. Descripción micológica

Es un hongo dimórfico, es decir, se desarrolla de forma distinta en función de la temperatura de crecimiento, como levadura, normalmente a 37 °C en el huésped, y como hongo de aspecto filamentoso, a 25 °C en la naturaleza. Pertenece al filo Ascomycota y se reproduce de forma asexual por gemación. En forma de levadura presenta un aspecto de células redondas u ovaladas, de 3 - 8 x 27 micras de tamaño, agrupadas en pequeños grupos, mientras que, en forma de hongo filamentoso, las células se alargan y se diversifican tomando la apariencia de filamentos, pseudo-hifas o pseudo- Micelio ²¹. Colonias de crecimiento rápido, circulares, lisas, blancas o cremosas, pastosas y blandas, bordes precisos, centro ligeramente prominente, con olor a Levadura ²¹.

2.2.3.2. Descripción taxonómica

Tabla 2. Taxonomía de *Cándida albicans*

Reino	: Fungi
División	: Deuteromycota
Clase	: Blastomycetes
Orden	: Pseudosaccharomycetales
Familia	: Cryptococcaceae
Género	: Cándida
Especie	: <i>Cándida albicans</i>
	<i>Monilia albicans, Cándida</i>
Sinónimos	: <i>stellatoidea</i>

Fuente. Sánchez. (1980) Flora del valle de México. Tomo I. Cuarta Editorial Herrera.

2.2.3.3. Composición química

La composición química de *Cándida albicans* está representada por 20 - 40 % de proteínas y 30 - 50 % de polisacáridos, mientras que la proporción de lípidos es variable. La fracción lipídica va a depender de la cepa, edad del cultivo, condiciones ambientales y del origen de la fuente de carbono ²².

La pared celular de *Cándida albicans* está compuesta principalmente por los polisacáridos manán, glucán y quitina. Aunque la síntesis de los componentes de la pared celular está dinámicamente influenciada por las condiciones de crecimiento y por los estadios metabólicos ²².

2.2.3.4. Ecología

Está asociada ecológicamente a seres vivos de sangre caliente. Su temperatura óptima de crecimiento es 37 °C. Los tractos digestivo y respiratorio, junto con la mucosa genital (vagina), son los reservorios más importantes en los seres humanos y origen de candidiasis endógenas.

En estas localizaciones se comporta como un saprobio y su aislamiento no implica por sí solo la presencia de infección. *Cándida albicans* no sobrevive durante mucho tiempo en superficies secas pero su supervivencia es mayor cuando hay humedad y se ha aislado de los cepillos dentales, cremas de manos, cosméticos y ropa ²².

2.2.3.5. Patogenicidad

Es una levadura comensal, presente en las mucosas de los seres humanos y los animales de sangre caliente ²¹, siendo habitualmente aislada de la cavidad oral, el tracto gastrointestinal y urogenital, y su conversión en agente patógeno depende principalmente de la alteración del equilibrio entre la microbiota y el sistema inmunitario del hospedador ²³.

Es considerada por ello un patógeno oportunista. Las relaciones con su hospedador, cobran un importante papel en este tipo de infección. El estado fisiológico del hospedador es el primer factor que gobierna la etiología de las candidiasis, variaciones de este estado pueden desencadenar que las levaduras comensales se conviertan en patógenas, causando infecciones ²³.

Es capaz de sobrevivir como comensal en distintas localizaciones, y por ello está sometido a distintas presiones medioambientales. Esta habilidad

amplía el espectro de enfermedades causadas por *C. albicans* y otras especies de *Cándida*, siendo su incidencia mayor que la de otros microorganismos comensales ²³.

En estos últimos años en las unidades de cuidados intensivos hospitalarios se ha experimentado un avance considerable en los sistemas de soporte vital, con un incremento en la utilización de antibióticos de amplio espectro, un evidente aumento de edad y gravedad de los enfermos ingresados, y mayor utilización de nutrición parenteral total y suspensiones lipídicas. Como consecuencia de lo anterior la incidencia de infección fúngica invasora (IFI) ha aumentado significativamente en este contexto; siendo, por consiguiente, la morbimortalidad asociada a este tipo de patología muy elevada ²⁴.

Un estudio efectuado en el instituto de Patología de la Universidad de Greifswald, Alemania, donde se realizaron 2027 necropsias, en el período 1994 - 1998

la incidencia de la candidiasis invasora (CI) fue de un 3,2 %, dicha incidencia se triplicó en el período entre 1999 - 2003, alcanzando el 10 % ²⁵.

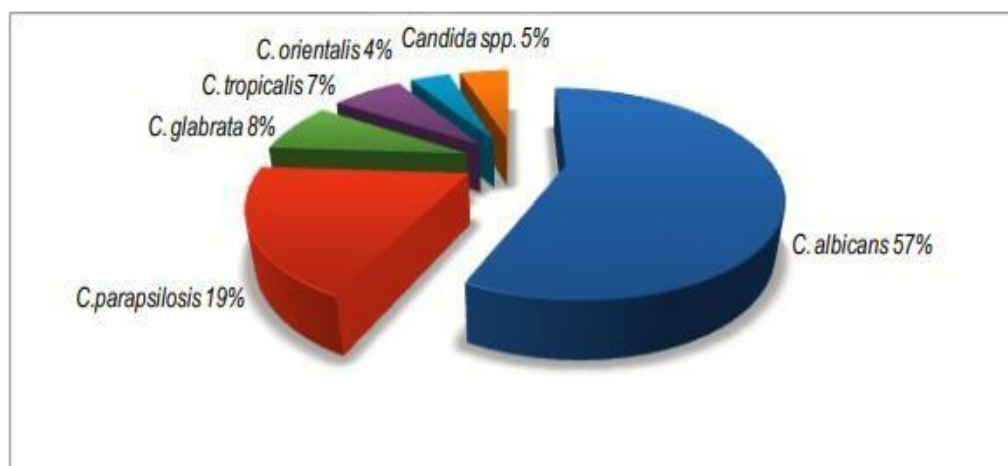


Gráfico 1. Porcentajes de aislamientos de las distintas especies de hongos del género cándida y otros géneros de levaduras.

Fuente: Confederación de Micología Médica. (Adaptado de Tortorano et al., 2004).

2.2.4. Candidiasis

2.2.4.1. Generalidades

La candidiasis es una infección por hongos que también se conoce por los nombres de moniliasis, “infección por levaduras”, “infección por hongos”; son causadas por un hongo del género *Cándida*, el más

frecuente de todos es la *Cándida albicans*, que causa alrededor del 90 % de las infecciones por hongos ²⁶.

2.2.4.2. Clasificación

- ✓ **Candidiasis superficiales**, afectan principalmente a la piel y a las mucosas oral y genital. La candidiasis oral se puede presentar en varias formas clínicas, siendo la más común la pseudomembranosa o muguet, afecta a la mucosa de boca y faringe, y suele producirse en recién nacidos y en ancianos o inmunodeprimidos ²⁷.
- ✓ **Candidiasis profundas**, producen lesiones agudas o crónicas que pueden afectar a uno o más órganos, y generalmente terminan en una septicemia, denominándose entonces candidiasis sistémicas o diseminadas. Se observan principalmente en pacientes inmunocomprometidos y suelen ser de pronóstico grave. La mortalidad puede superar el 50 %, aunque hay que tener en cuenta que casi siempre aparece como complicación a una enfermedad grave, con lo que el índice de mortalidad aumenta ²⁷.

- ✓ **Candidiasis cutánea**, la piel está infectada con hongos de *Cándida* y es bastante común. La infección puede comprometer casi cualquier piel en el cuerpo, pero casi siempre se produce en áreas cálidas, húmedas, con pliegues como las axilas y la ingle ²⁸. Candidiasis oral se puede presentar en varias formas clínicas, siendo la más común la pseudomembranosa o muguet, que afecta a la mucosa de boca y faringe, y suele producirse en recién nacidos y en ancianos o inmunodeprimidos ²⁷.
- ✓ **La candidiasis genitourinaria**, ocurre principalmente en las mujeres y se denomina candidiasis vulvovaginal (CVV) si afecta a la vagina y que representa alrededor del 20 % de los casos de vaginitis ²⁹, y si no se trata adecuadamente puede ser recurrente ³⁰, o candiduria si afecta a orina o el tracto urinario ³¹. En hombres, la infección ocurre con menos frecuencia y se denomina balanitis candidiásica ³².

El diagnóstico de las candidiasis superficiales se realiza mediante criterios clínicos, junto con la

observación al microscopio de muestras de lesiones o cultivos selectivos. Hay que tener en cuenta que un cultivo positivo demuestra la presencia de *Cándida spp.* pero no la infección ³³.

2.2.5. Antimicóticos

2.2.5.1. Generalidades

Es difícil determinar el impacto real de las infecciones fúngicas, pero parece evidente que las que comprometen la piel y las mucosas son las más importantes en términos de morbilidad. Las micosis de piel y mucosas constituyen un problema sanitario de alcance mayor en la población mundial de todas las edades, y se calcula que generan, al menos, del 5 al 10 % de las consultas dermatológicas. Se estima que 15 millones de personas en todo el mundo padecen tiña de cuero cabelludo (*tinea capitis*), en tanto la onicomycosis es una de las infecciones fúngicas de mayor incidencia en el mundo, afectando aproximadamente al 2 a 3 % de la población. A ello hay que sumar los daños generados por las infecciones

cutáneas y mucosas causadas por levaduras del género *Cándida*, las onicomycosis por hongos filamentosos no dermatofitos, las micosis superficiales por levaduras lipofílicas del género *Malassezia*, y otras dermatomycosis. Las opciones terapéuticas para las infecciones fúngicas superficiales, cutáneas y mucosas, no han dejado de evolucionar desde mediados del siglo pasado, mejorando no sólo su eficacia y espectro de acción sino también su tolerabilidad, manejo y tiempo de tratamiento ³⁴.

2.2.5.2. Clasificación

Los antimicóticos pueden clasificarse según criterios convencionales que atienden a su estructura en: polienos, azoles, alilaminas, entre otros de acuerdo con su origen en sustancias producidas por organismos vivos o derivados de síntesis química; de acuerdo con su espectro de acción en: amplio o restringido y de acuerdo con el sitio de acción. También puede tenerse en cuenta la forma de aplicación. Hoy existen más de 115 presentaciones de preparados antifúngicos de uso tópico (crema, gel, pomada, polvo,

solución, loción, spray, tabletas vaginales, etc.) con diferencias también respecto a su posología y duración. Para su correcta administración, se deben aplicar cubriendo el área lesionada y abarcando 1 o 2 cm de piel sana. Son medicamentos bien tolerados, y los efectos adversos son en general leves y transitorios

34.

Tabla 3. Clasificación de los antimicóticos

Polienos	Nistatina, Natamicina, Anfotericina B
Azoles	Imidazol: Miconazol, Clotrimazol, Ketoconazol. Triazoles: Fluconazol, Itraconazol, Ketoconazol. Triazoles de segunda generación: Voriconazol, Ravuconazol, Posaconazol
Alilaminas	Terbinafina, Naftilina
Lipopéptidos	Papulacandinas. Triterpenos glicosilados Equinocandinas: Caspofungina, Anidulofungina, Micafungina
Pirimidinas	Flucitosina
Otros	Ioduro de potasio, Ciclopirox, Tolnaftato, Griseofulvin

Fuente. Thompson M., Luis. Antifúngicos. Rev. chil. infectol., Santiago, v. 19, supl. 1, p. S22-S25, 2002.

2.2.5.3. Mecanismo de acción de los antimicóticos

La gran similitud entre las células mamíferas y fúngicas resulta un problema a la hora de diseñar la molécula antifúngica, pues esta debe ser selectiva de la célula patógena y no de la célula humana sana. Los agentes antifúngicos comúnmente son utilizados ante infecciones de las mucosas de las cuales unas de cuatro están relacionadas con hongos patógenos. El mecanismo de acción de los medicamentos que inhiben el crecimiento de hongos, depende del lugar en el que actúen, lo cual está relacionado con la estructura química del antifúngicos ¹⁶.

- Antimicóticos que actúan sobre la membrana celular del hongo

La membrana celular de la célula humana, así como la de los hongos, desempeña una importante función en la división celular y en el metabolismo. Las complejas partículas lipídicas llamadas esterolatos, son aproximadamente el 25 % de la membrana celular. Sin embargo, el contenido de

esterol de la célula fúngica y mamífera es diferente. En las células de los mamíferos el colesterol es el esteroles que predomina y en las células fúngicas el primario es el ergosterol. La diferencia del contenido de esteroides ha sido explotada como blanco de acción en los medicamentos antifúngicos. Dentro de ellos se tiene a los polienos, azoles y alilaminas ³⁴.

Clotrimazol es un agente antifúngico imidazólico, que se utiliza en el tratamiento de infecciones producidas por varias especies de dermatofitos patógenos, hongos y *Malassezia furfur*. Algunas de las infecciones en las que el clotrimazol es eficaz son la tiña (dermatofitosis) y las candidiasis oral y vaginal. Debido a su pequeña penetración a través de la piel, el Clotrimazol está indicado en el tratamiento de las micosis subcutáneas.

Mecanismo de acción. Igual que otros antifúngicos azólicos, el Clotrimazol actúa alterando la membrana de los hongos sensibles. El

Clotrimazol inhibe la síntesis del ergosterol al interaccionar con la 14 – α - metilasa, una enzima del citocromo P450 que es necesaria para transformar el lanosterol a ergosterol, un componente esencial de la membrana. En general, se han desarrollado pocas resistencias al Clotrimazol. Este fármaco es eficaz frente a una amplia gama de microorganismos entre los que se incluyen los *Aspergillus fumigatus*, *Cándida albicans*, *Cephalosporium*, *Cryptococcus*, *Epidermophyton floccosum*, *Microsporum canis*, *Malassezia furfur*, *Sporothrix*, *Trichophyton rubrum*, y *T. mentagrophytes*. Algunas bacterias también son sensibles al Clotrimazol, si bien este fármaco no se ha utilizado nunca clínicamente en el tratamiento de infecciones bacterianas. Los *Trichomonas vaginalis* no son sensibles a las concentraciones que se obtienen en la clínica. El Clotrimazol ha mostrado inhibir el transporte de los iones cloruro y potasio a través de las membranas celulares, lo que explicaría que experimentalmente

inhiba el crecimiento de algunos tumores en animales. Este mecanismo también podría explicar que el Clotrimazol impida la deshidratación de los hematíes en los pacientes con anemia falciforme.

Farmacocinética. El Clotrimazol no se administra sistémicamente, y después de la aplicación tópica sobre la piel o vaginalmente las concentraciones plasmáticas son mínimas. Por vía vaginal, se absorbe entre el 5 y 10 % de la dosis, pero las concentraciones plasmáticas son muy pequeñas. Debido a que el Clotrimazol se fija a las mucosas oral y vaginal, se detectan concentraciones significativas del fármaco hasta 3 días después de su aplicación. Las pequeñas cantidades que se absorben son metabolizadas en el hígado y excretadas en la bilis.

- **Antimicóticos que actúan sobre la pared celular del hongo.**

Lipopéptidos. La pared celular del hongo es fundamental en su viabilidad y patogenicidad. Esta

sirve como cubierta protectora, le provee morfología celular, facilita intercambio de iones, la filtración de proteínas y participa en metabolismo y catabolismo de nutrientes complejos. La ausencia de pared celular es otro de los blancos de acción en la terapia antifúngica. Desde el punto de vista estructural, la pared celular de los hongos está compuesta de un complejo protéico y polisacárido cuya composición varía en dependencia de la especie de hongo. La distribución de estas proteínas y carbohidratos en la matriz está en relación con la función de la pared celular y los procesos de osmosis y lisis. Los antifúngicos que actúan sobre ella lo hacen inhibiendo la síntesis de los glucanos a través de la inactivación de la enzima 1,3 – β -glucano sintetasa. La falta de glucanos en la pared celular la vuelve débil e incapaz de soportar el estrés osmótico, por lo que muere ³⁴.

- **Antimicóticos que actúan sobre el núcleo de la célula fúngica**
- **Antimetabolitos.** Un clásico antimetabolito es la fluocitosina o 5 fluorocitosina. Este fármaco es transportado por la citosina permeasa en el citoplasma de la célula fúngica, donde se convierte en 5 - fluorouracil (5 - FU) por la citosina diaminasa. El 5 - FU es fosforilado e incorporado dentro del RNA convirtiéndose en el dexosinucleotido, el cual inhibe a la timidilato sintetasa y de esta forma impide la síntesis de proteínas de la célula. También inhibe la síntesis de la proteína fúngica, reemplazando el uracil con 5 - FU en el ARN fúngico ³⁴.

2.3. Definición de términos

- ✓ **Aceite esencial.** Son compuestos formados por varias sustancias orgánicas volátiles, que pueden ser alcoholes, acetonas, cetonas, éteres, aldehídos, y que se producen y almacenan en los canales secretores de las plantas.

- ✓ **Antimicótico.** Se entiende por anti fúngico o antimicótico a toda sustancia que tiene la capacidad de evitar el crecimiento de algunos tipos de hongos o incluso de provocar su muerte.
- ✓ **Candidemia.** La candidemia es la proliferación de *Cándida* en la sangre. Agente transmisor. Se denomina candidemia a la presencia del hongo *Cándida* en el torrente sanguíneo. Junto con la candidiasis de los tejidos profundos, comprenden la candidiasis invasiva.
- ✓ **Carminativo.** es un medicamento o sustancia que favorece la disminución de la generación de gases en el tubo digestivo y con ello disminuyen las flatulencias y cólicos. El efecto se refiere a un efecto antiespasmódico en los músculos estomacales lisos y a un efecto de disminución de la fermentación en la flora intestinal.
- ✓ **Dermatofitosis.** Comúnmente llamadas tiñas, son un conjunto de micosis zoonóticas superficiales que afectan a la piel, específicamente a la epidermis, y sus anexos (uñas y pelos). Son causadas por el grupo de hongos parásitos de la queratina llamados dermatofitos.
- ✓ **Onicomycosis.** La onicomycosis es la infección micótica de la lámina ungueal o el lecho ungueal. Las uñas presentan deformación y decoloración amarillenta o blanquecina. El

diagnóstico se basa en el aspecto de las uñas, el examen microscópico en fresco, el cultivo, PCR o una combinación de ellos. El tratamiento, cuando está indicado, se realiza con terbinafina o itraconazol por vía oral.

- ✓ **Taxonomía.** La taxonomía es la ciencia que se encarga de nombrar, describir y clasificar a los seres vivos. Es una rama de la biología.
- ✓ **Agar Sabouraud.** Es un medio de amplia utilización y parcialmente selectivo para el aislamiento de hongos. debido a su bajo pH y alta concentración de glucosa.
- ✓ **Monoterpenos.** Son terpenoides que constan de unidades de isopreno constituyente de los aceites esenciales.
- ✓ **Clotrimazol.** Es un medicamento antimicótico, utilizado para tratar ciertos tipos de infecciones de hongos o por levadura.

CAPÍTULO III

MARCO METODOLÓGICO

3.1. Tipo y nivel de la investigación

3.1.1. Tipo de investigación

✓ **Según la intervención del investigador**

Es experimental, plantea la relación causa efecto y deben ser controlados. El objetivo fue la intervención manipulando la variable, provocando micosis de *Cándida albicans* en las unidades de estudio que para el caso fueron ratas albinas.

✓ **Según la planificación de las mediciones**

Es prospectivo, el investigador administra sus propias mediciones (datos primarios), la información recolectada posee el control del sesgo de medición. Los datos necesarios para el estudio fueron recogidos en una hoja de control. Para la presente investigación correspondió a 25 días.

✓ **Según el número de mediciones**

Es longitudinal, la variable de estudio fue medida en dos o más ocasiones, se trata de estudios de seguimiento, las comparaciones son entre medidas.

✓ **Según el número de variables**

Es analítico, es un estudio en el que el examen establece relaciones de causa efecto y pone a prueba la hipótesis.

3.1.2. Nivel de investigación

Es explorativa, explica el comportamiento de una variable en función de otra(s); por ser estudios de causa-efecto requieren control y debe cumplir otros criterios de causalidad.

3.1.3. Diseño de investigación

La presente investigación corresponde a un estudio Experimental en la que requiere dos condiciones: intervención y asignación aleatoria (grupo control).

3.2. Población y muestra

3.2.1. Población

Estuvo compuesta por 25 ratas albinas de la especie *Rattus norvegicus* de aproximadamente tres meses de edad,

procedentes del Bioterio del Instituto Nacional de Salud (INS)
– Lima. Conservando las siguientes características de Homogeneidad que todos los miembros de la población tuvieron las mismas características edad, peso y sexo.

3.2.2. Muestra

En la investigación experimental, se utilizaron 20 ratas albinas machos de aproximadamente tres meses de edad.

3.3. Materiales de laboratorio

3.3.1. Equipos

- Autoclave.
- Estufa
- Estufa.
- Balanza analítica.
- Equipo de destilación.
- Papel filtro Whatman N° 40.
- Equipo de vórtex.

3.3.2. Materiales de vidrio

- Tubos de ensayo con tapa rosca de 15 x 125 mm.
- Tubos de ensayo de 13 x 100 mm y 40 de 15 x 125 mm.
- Placas Petri de 10 x 100 mm.

- Matraces de 250 y 500 ml.
- Pipetas de 1 y 5 ml.
- Vasos precipitados de 200 ml.
- Frasco de vidrio color ámbar de 100 ml capacidad.
- Probeta de 100 ml.
- Mortero de porcelana.

3.3.3. Medios de cultivo y reactivos

- Agar Sabouraud 2 %.
- Caldo Infusión Cerebro Corazón (BHI).
- Alcohol de 70 °C.

3.3.4. Otros

- Asa de Kholle
- Gradillas
- Espátulas
- Pinzas.
- Papel Kraft.
- Mascarilla.
- Guantes quirúrgicos.
- Guardapolvo.
- Algodón.
- Pabilo.

- Papel aluminio.
- Reglas milimetradas.
- Marcadores.
- Calculadora.

3.4. Técnica, instrumento y procedimiento de recolección de datos

3.4.1. Técnica

Arrastre de vapor (Lock de Ugaz, O. 1994, y Martínez M, Alejandro (2001)¹¹, la cual se utilizó para la extracción del aceite esencial de *Tagetes minuta* L.

Medio agar Sabouraud, utilizado en el cultivo y desarrollo de *Cándida albicans* para así determinar la actividad antimicótica del ungüento a base del aceite esencial de *Tagetes minuta* L.

3.4.2. Instrumento

Se elaboró una ficha para realizar la recolección de datos obtenido en el presente estudio.

3.4.3. Procedimiento de recolección de datos

3.4.3.1. *Tagetes minuta* L.

a. Recolección

- **Obtención y selección de la planta en estudio.** La planta *Tagetes minuta* L. “Huacatay” se obtuvo en el mercado Grau de Tacna y se colocó en bolsas de primer uso para su traslado y conservación hasta su posterior identificación y procesamiento.
- **Tratamiento de las hojas de estudio.** El secado natural de las hojas de “Huacatay” se realizó en una habitación de 3 m² por un periodo de 4 a 7 días, lugar seco, sombreado, poca humedad y bien ventilado. Para garantizar el secado de las mismas de forma óptima. La muestra se depositó en una plataforma horizontal no compacta (rejilla metálica), de 3 m de largo y 1 m de ancho. Las hojas se extendieron de forma uniforme en toda la plataforma y son removidas

constantemente para conseguir un secado homogéneo.

Posteriormente fueron seleccionadas las hojas para la extracción del aceite esencial, teniendo en cuenta un tamaño uniforme, sin síntomas de enfermedad.

b. Extracción y rendimiento del aceite esencial

Las hojas de “Huacatay” fueron trozadas en tamaños más pequeños para facilitar la extracción, agrupándose luego en muestras de 250 g los cuales fueron embolsados en papel Kraft. La obtención del aceite esencial de las hojas se realizó por el método de destilación por arrastre con vapor de agua. El equipo de destilación estuvo compuesto por un sistema de doble balón, uno de los cuales contuvo agua destilada (700 ml) y fue sometido a calor directo (cocina eléctrica); mientras que en el segundo (capacidad 1000 ml) contuvo 250 g de las hojas de “Huacatay”, el cual recibió los vapores de agua, para que luego el vapor producido arrastre los aceites esenciales hasta el refrigerante. Este

cambio de temperatura hizo que el vapor se condense y se vuelva nuevamente líquido (agua - aceite). El producto destilado se recibió en un depósito estéril, observándose un estado bifásico entre agua y aceite esencial, por la diferencia de densidades. Utilizando las pipetas Pasteur se separó el aceite esencial para luego almacenarse en un tubo de vidrio con tapa rosca cerrado herméticamente y envuelto en papel aluminio para proteger de la luz del ambiente. Los aceites esenciales fueron almacenados a temperatura ambiente y en oscuridad hasta su utilización.

c. Evaluación de la actividad del aceite esencial de *Tagetes minuta* L.

Técnica. Método de difusión de disco o Kirby Bauer (Koneman y col, 2004) y Manual de Procedimientos para la Prueba de Sensibilidad Antimicrobiana por el Método de Difusión (2002).

d. Preparación del ungüento de Huacatay

Para el experimento se elaboró ungüentos en dos concentraciones.

Tabla 4. Formulación del ungüento de “*Huacatay*”

Ungüento de Huacatay 3 % V/P	Ungüento de Huacatay 6 % V/P
3 ml de AE de Huacatay en 50 g Vaselina + 50 g lanolina	6 ml de AE de Huacatay en 50 g Vaselina + 50 g lanolina

Fuente. Elaboración propia

Se midió 3 ml de aceite de Tagetes Minuta L, 50 g de vaselina y 50 g de lanolina. En un vaso precipitado se procedió la mezcla entre vaselina y lanolina a una temperatura de 80 °C, luego de este procedimiento se esperó que disminuya la temperatura a 50 °C para agregar los 3 ml de aceite de Tagetes minuta L, se mezcló con la ayuda de una varilla de vidrio para obtener un ungüento de forma uniforme. El mismo procedimiento se realizó para la concentración del 6 %.

- **Características organolépticas:** Se observó de primera impresión la calidad del producto, y luego a intervalos de tiempo (24 horas, 5, 10, 15 y 20 días) con la finalidad de examinar:

homogeneidad, textura suave, consistencia, color y olor agradable.

- **Estabilidad térmica:** Se determinó la estabilidad física de las preparaciones a diferentes temperaturas (30, 50 y 80 °C) mediante la observación macroscópica de fenómenos de floculación a diversos tiempos (24 horas, 5,10 y 15 días)

3.4.3.2. *Cándida albicans*

Se utilizó un microorganismo patógeno de importancia clínica, proporcionada por el Ministerio de Salud-Tacna (Minsa): *Cándida albicans* ATCC 6538.

Preparación del inóculo para *Cándida albicans*

En la estandarización de la población microbiana se utilizó a partir de colonias de la levadura en estudio bien aislada de un cultivo puro de agar Nutritivo. Con un asa bacteriológica se transfirieron las colonias a un tubo que contenga 5 ml de Caldo BHI, homogenizando las colonias hasta lograr turbidez, se incubó el inóculo a 37 ° C por cuatro horas, posteriormente, el inóculo se estandarizó por turbidez con el tubo 0,5 de la escala de

Mac Farland cuya población microbiana fue de 1,5 x 10⁸ UFC/ml.

3.4.4. Estudio farmacológico

3.4.4.1. Etapas para la determinar el efecto antimicótico

a. **Distribución de la muestra.** El estudio farmacológico del efecto antimicótico se realizó en ratas albinas de ambos sexos de la especie, de tres meses de edad entre 30 y 40 g de peso cada una. Se distribuyeron aleatoriamente en cinco grupos.

Tabla 5. Distribución de la muestra

	GRUPO 1	GRUPO 2	GRUPO 3	GRUPO 4	GRUPO 5
MÉTODO	Grupo experimental		Control negativo	Control positivo	Blanco
	<i>Ungüento de Huacatay 3 %</i>	<i>Ungüento de Huacatay 6 %</i>	Vaselina + Lanolina	Clotrimazol 1 %	Sin tto.
	5	5	5	5	5
TOTAL	25 ratas albinos				

Fuente. Elaboración propia

b. Ambientación o acondicionamiento. Fueron distribuidos aleatoriamente al azar en cinco grupos y colocados uno por jaula. Se mantuvieron en observación por un periodo de una semana, verificándose la condición óptima de las ratas para el estudio. A dichos animales se les mantuvo en un ambiente ventilado apropiadamente, en jaulas individuales, con alimento balanceado y agua a voluntad, por un periodo de 7 días previos al inicio de la experiencia. Se procuró un ciclo de luz/oscuridad de 12 cada uno por día.

c. Depilación. Después de una semana de ambientarse las ratas albinas al lugar de trabajo, se procedió a depilarlos con un rasurador en el primer tercio dorsal anterior en un área aproximada de 2 cm², terminada la depilación a cada una se colocan en sus respectivas jaulas teniendo libre acceso a bebida y comida. La depilación se realizó 24 horas antes del procedimiento de infección.

d. Raspado e infección. Después de 24 horas de la depilación, Se colocó a la rata sobre la mesa de trabajo, desinfectando el área depilada con yodopovidona 10 %, haciéndose la desinfección con el restante de las ratas, terminado la desinfección se procedió a coger uno a uno para infectarlos con *Cándida albicans* la cual se hizo con ayuda de una micropipeta 100 µl de solución salina con hongo y se aplicó sobre el área dañada (raspada), cubriéndolo luego con esparadrapo quedando adherida por 24 horas, de tal forma que llegue a infectarse.

Procedimiento realizado con las 20 ratas albinas. Las muestras recolectadas en cada control fueron sembradas directamente, sin diluciones, en agar Sabouraud. Se incubó en estufa Pasteur a 37 °C por 24 a 48 horas, pasado el período de incubación se analizaron la presencia o no de las colonias.

3.5. Análisis de datos

Se elaboró un cuadro de datos en el Software informático Excel 2016, en la que se registró todos los datos obtenidos en el presente estudio. Posteriormente se trasladó los datos al Software estadístico SPSS v.26 (Statistical Package for the Social), en la que se desarrolló los procedimientos estadísticos con el fin de alcanzar los objetivos.

3.5.1. Estadística descriptiva

Los variables cualitativos se muestra a través de las tablas y las variables numéricas se muestran a través de Medida de tendencia central como la Media y Medida de dispersión como la Desviación estándar. Sus valores son graficados mediante el diagrama de caja.

3.5.2. Estadística inferencial

Se realizó un análisis estadístico multivariado.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS

Tabla 6. Estadísticos descriptivos del efecto antimicótico del ungüento del aceite esencial *Tagetes minuta* L. “*Huacatay*” y Clotrimazol 1 %

Tratamiento		n	Mínimo (ufc)	Máximo (ufc)	Media (ufc)	Desv. Típ.
Clotrimazol 1 %	Primer control	5	40	45	41,60	2,074
	Segundo Control	5	16	20	17,80	1,483
	Tercer Control	5	1	3	1,60	0,894
Ungüento Huacatay 3%	Primer control	5	40	43	41,20	1,304
	Segundo Control	5	15	18	16,20	1,304
	Tercer Control	5	0	0	0,00	0,000
Ungüento Huacatay 6%	Primer control	5	42	45	43,20	1,304
	Segundo Control	5	14	18	16,00	1,581
	Tercer Control	5	0	0	0,00	0,000
Muestra Control	Primer control	5	38	43	40,80	1,924
	Segundo Control	5	60	70	65,80	3,768
	Tercer Control	5	85	98	90,80	4,764

* **Primer control** : Toma de muestra sin tratamiento
 ** **Segundo control** : Tomado 7 días después de aplicación
 *** **Tercer control** : Tomado 15 días después de aplicación

Fuente. SPSS v.26

Interpretación.

En la tabla 6, se aprecia la distribución de los estadísticos descriptivos del efecto antimicótico del tratamiento con ungüentos de “*Huacatay*” al 3 y 6 % y la forma farmacéutica Clotrimazol 1 %; para el grupo de Clotrimazol 1 %, en el primer cultivo sin previo tratamiento el promedio de micosis fue de $41,60 \pm 2,074$ UFC, tras seguir el tratamiento con la forma farmacéutica, en su segundo control correspondió a $17,80 \pm 1,483$ UFC y al tercer control el promedio pertenece a $1,60 \pm 0,890$ UFC. Por otro lado, para el ungüento de “*Huacatay*” al 3 % para su primer control el promedio fue de $41,20 \pm 1,304$ UFC, para el segundo control corresponde a $16,20 \pm 1,304$ UFC y al tercer control el promedio concierne a $0,00 \pm 0,00$. Mientras que para el ungüento de “*Huacatay*” al 6 % para su primer control el promedio es $43,20 \pm 1,304$ UFC, para el segundo control corresponde a $16,00 \pm 1,581$ UFC y al tercer control el promedio correspondió a $0,00 \pm 0,00$ UFC, Finalmente para la muestra control su primer control el promedio fue de $40,80 \pm 1,924$ UFC, segundo control correspondió a $65,80 \pm 3,768$ UFC y al tercer control el promedio fue de $90,80 \pm 4,764$ UFC.

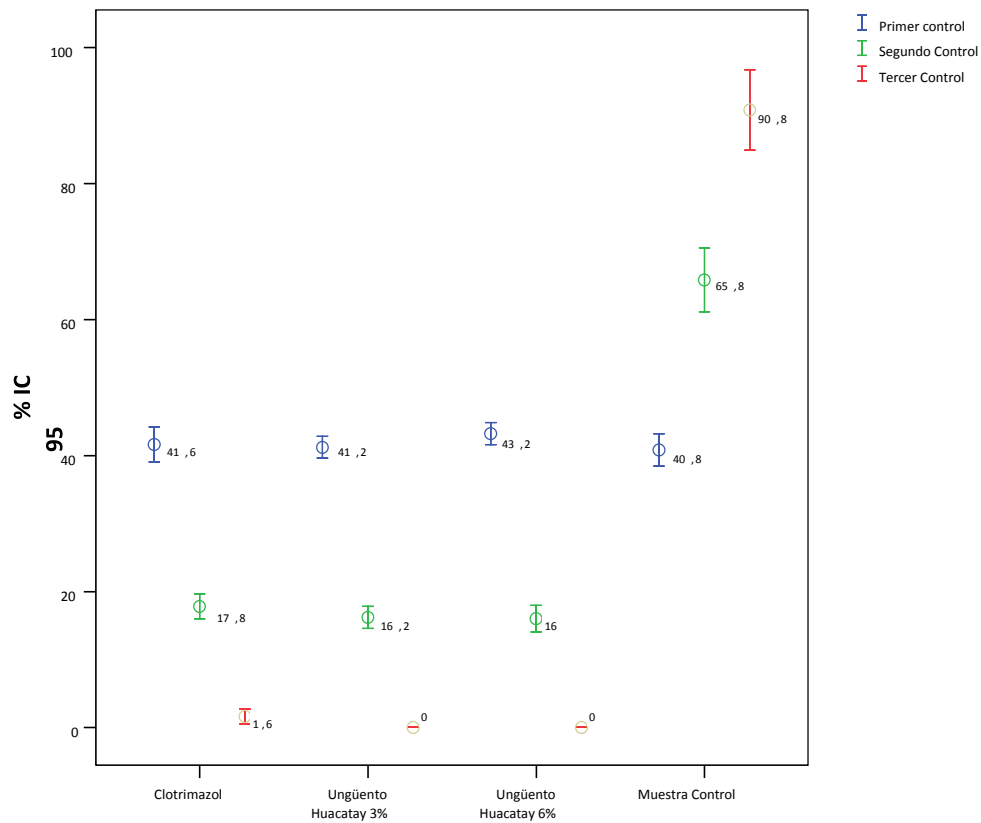


Gráfico 2. Intervalo de Confianza del efecto antimicótico del ungüento a base del aceite esencial *Tagetes minuta* L. “Huacatay” y Clotrimazol 1 % “*in vivo*” frente a *Cándida albicans* ATCC 6538 en ratas albinas.

Fuente. Tabla 6

Tabla 7. Análisis multivariado del efecto antimicótico de Clotrimazol 1 % “*in vivo*” frente a *Cándida albicans* ATCC 6538 en ratas albinas.

Fuente	Variable dependiente	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
Tratamiento	Primer control	1,600	1	1,600	0,400	0,545
	Segundo control	5,760,000	1	5,760,000	702,439	0,000
	Tercer Control	19,891,600	1	19,891,600	1,692,902	0,000

Fuente. SPSS v.26

a R cuadrado = 0,048 (R cuadrado corregida = -0,071)

b R cuadrado = 0,989 (R cuadrado corregida = 0,987)

c R cuadrado = 0,995 (R cuadrado corregida = 0,995)

Interpretación.

Se aprecia la distribución del efecto antimicótico del Clotrimazol 1 % como tratamiento antifúngico, comparado con una muestra control donde podemos valorar que la actividad antimicótica difiere al segundo y tercer control con un valor $p < 0,05$ se puede afirmar que el promedio varía desde el primer control de 41,60 UFC al segundo control con 17,80 UFC y al tercer control con 1,60 UFC, mientras que para el grupo control por el contrario asciende de 40,80 UFC al segundo control con 65,80 UFC y al tercer control a 90,80 UFC.

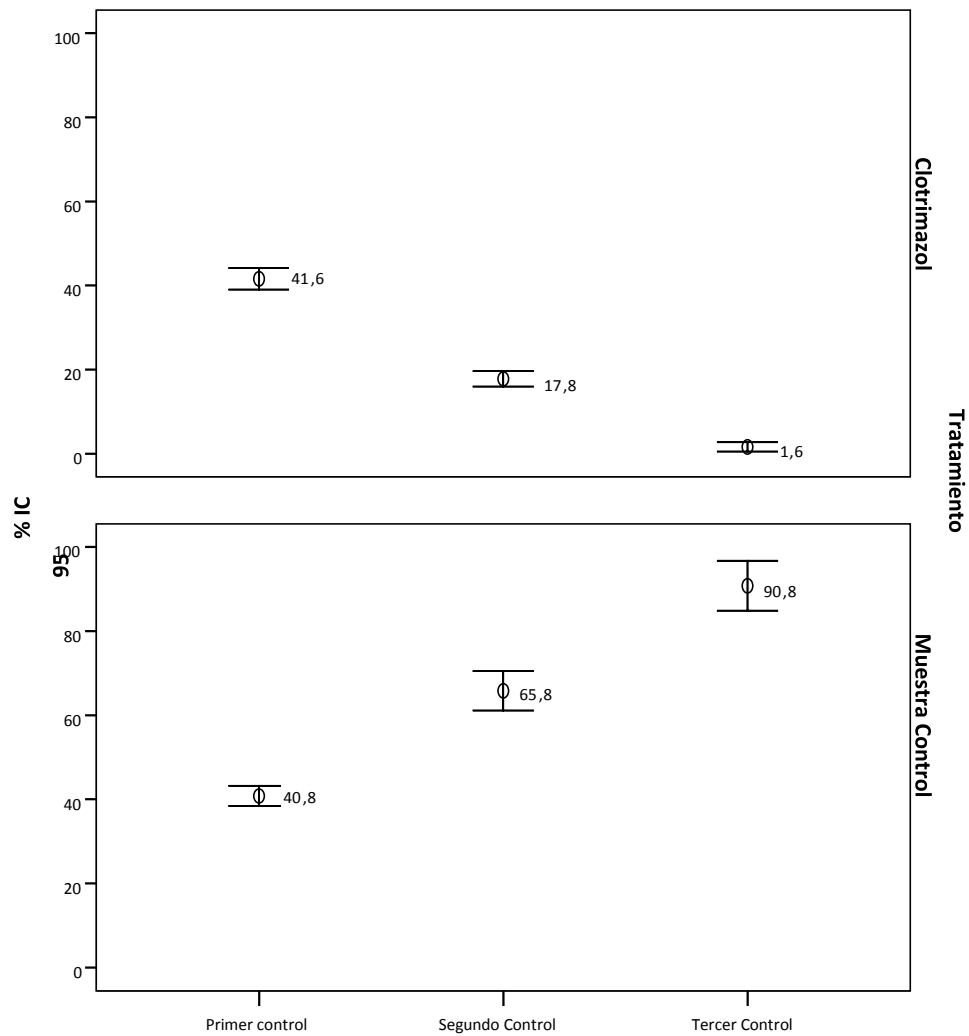


Gráfico 3. Intervalo de confianza del efecto antimicótico de clotrimazol 1 % “*in vivo*” frente a la *cándida albicans* ATCC 6538 en ratas albinas.

Fuente. Tabla 7

Tabla 8. Análisis multivariado del efecto antimicótico del ungüento de “Huacatay” 3 % “in vivo” frente a la *Cándida albicans* ATCC 6538 en ratas albinas.

Fuente	Variable dependiente	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
Tratamiento	Primer control	1,600	1	1,600	0,400	0,545
	Segundo control	5760,000	1	5760,000	702,439	0,000
	Tercer control	19891,600	1	19891,600	1692,902	0,000

Fuente. SPSS v.26

Interpretación.

En la tabla 8, se aprecia la distribución del efecto antimicótico del ungüento de Huacatay al 3 % como tratamiento, comparado con una muestra control positivo donde podemos apreciar que la actividad antimicótica difiere al segundo y tercer control con un valor $p < 0,05$. Se puede afirmar que el promedio varía desde el primer control de 41,20 UFC al segundo control con 16,20 UFC y al tercer control con 0,00 UFC, mientras que para el grupo control positivo por el contrario asciende de 40,80 UFC al segundo control con 65,80 UFC y al tercer control a 90,80 UFC.

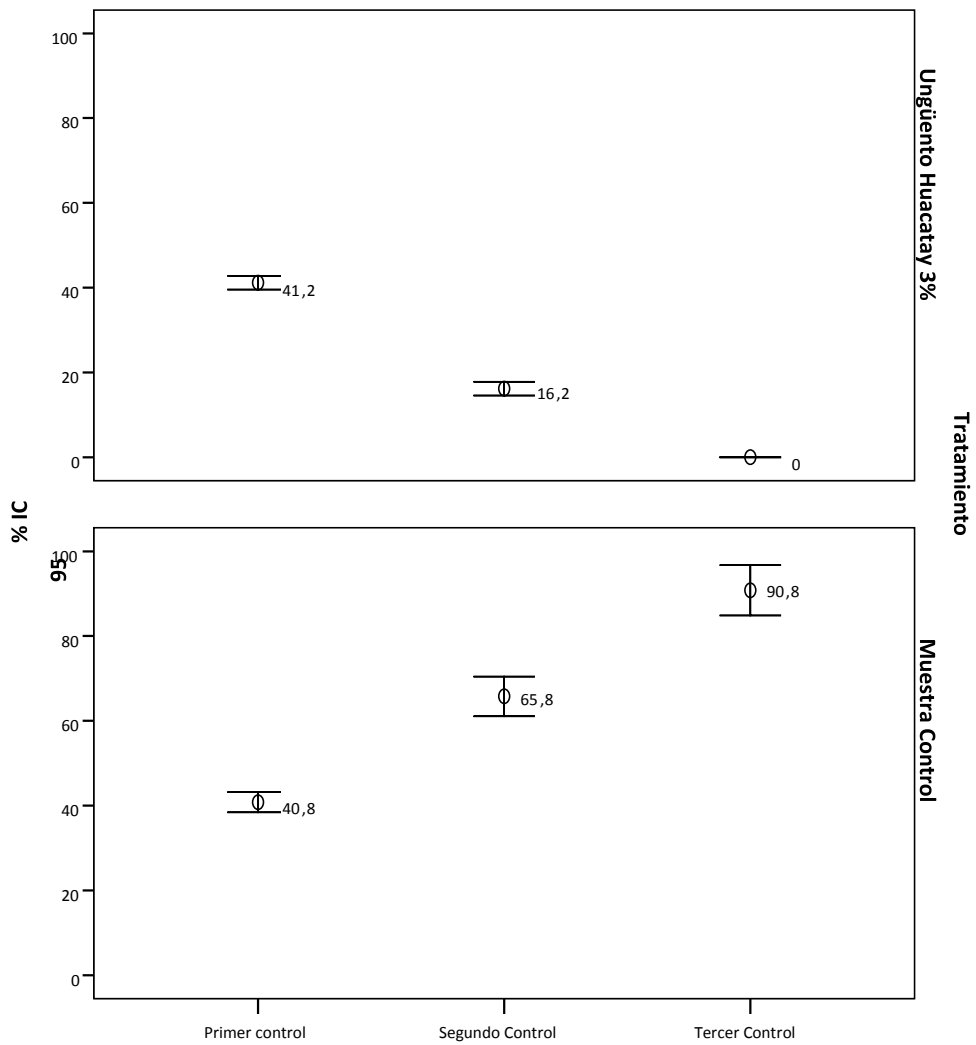


Gráfico 4. Intervalo de Confianza del efecto antimicótico del ungüento de “Huacatay” 3 % “in vivo” frente a *Cándida albicans* ATCC 6538 en ratas albinas.

Fuente. Tabla 8

Tabla 9. Análisis multivariado del efecto antimicótico del ungüento “Huacatay” 6 % “*in vivo*” frente a *Cándida albicans* ATCC 6538 en ratas albinas.

Fuente	Variable dependiente	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
Tratamiento	Primer control	14,400	1	14,400	5,333	0,050
	Segundo control	6200,100	1	6200,100	742,527	0,000
	Tercer Control	20611,600	1	20611,600	1816,000	0,000

Fuente. SPSS v.26

a R cuadrado = 0,400 (R cuadrado corregida = 0,325)

b R cuadrado = 0,989 (R cuadrado corregida = 0,988)

c R cuadrado = 0,996 (R cuadrado corregida = 0,995)

Interpretación.

En la tabla 9, se aprecia la distribución acerca del efecto antimicótico del ungüento de “Huacatay” al 6 % como tratamiento antimicótico, comparado con una muestra control positivo donde podemos apreciar que la actividad antimicótica difiere al segundo y tercer control con un valor $p < 0,05$. Se puede afirmar que el promedio varía desde el primer control de 43,20 UFC al segundo control con 16,00 UFC y al tercer control con 0,00 UFC, mientras que para el grupo control positivo por el contrario asciende de 40,80 UFC al segundo control con 65,80 UFC y al tercer control a 90,80 UFC.

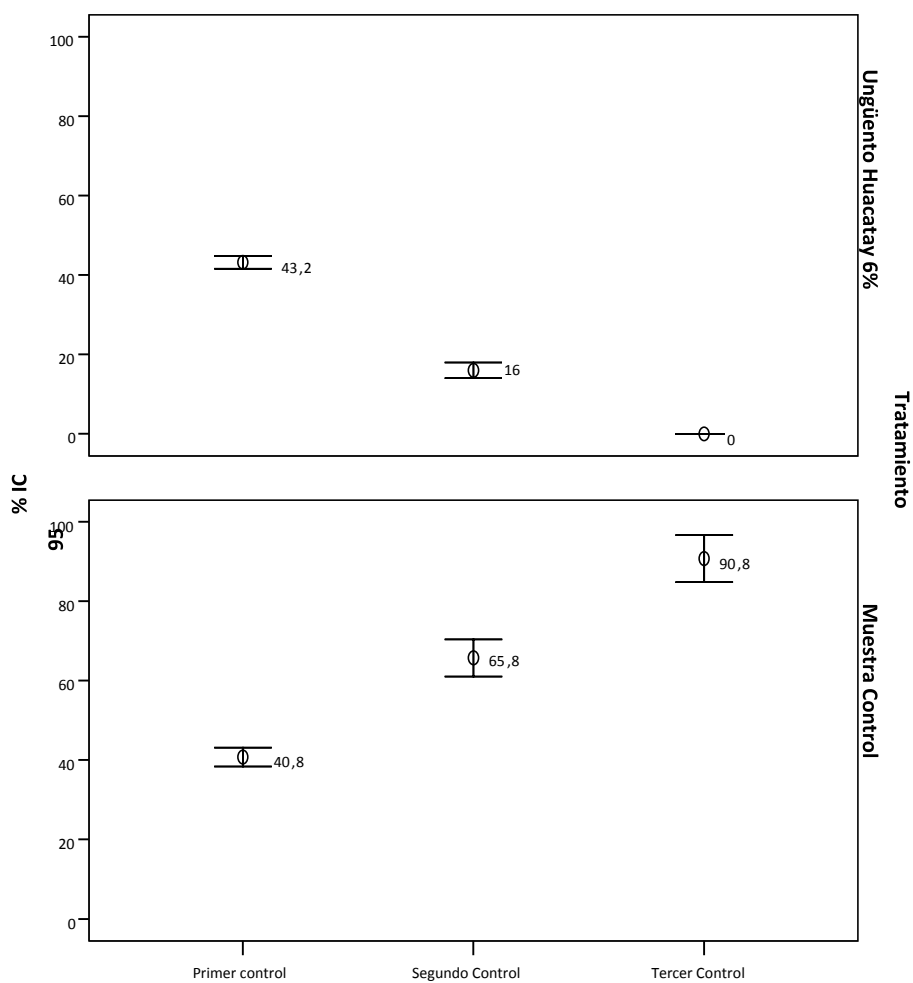


Gráfico 5. Intervalo de confianza del efecto antimicótico del ungüento “Huacatay” 6 % “in vivo” frente a *Cándida albicans* ATCC 6538 en ratas albinas.

Fuente. Tabla 9

DISCUSIÓN

Según lo estudiado se determina que el ungüento a base del aceite esencial de “*Huacatay*” inhibe el crecimiento de la *Cándida albicans* que se ha usado en el presente trabajo, esto se basaría a sus principales componentes, de acuerdo al estudio que se realizó al aceite esencial de *Huacatay*, en forma cuantitativa se encontró la presencia de monoterpenos hidrocarbonados: β -pineno en un 1,54 % y limoneno en 3,47 % y monoterpenos oxigenados: tagetone o 2-methyl-octanol en un 1,37 %, Bicyclo (3.1.1) hept-3-en-2-ine, 4,6 en un 5,31 %. Sin embargo, en el estudio realizado por Kiran (2007), detectó en el aceite esencial de *Tagetes minuta* L. “*Huacatay*” en forma cuantitativa principalmente la presencia de: limoneno 6,03 %, β -ocimene 49,27 % y tagetone en un 0,42 %.³⁵ Por lo tanto, la acción antimicótica demostrada por el aceite esencial de *Tagetes minuta* L. “*Huacatay*” se debería a estos compuestos bioactivos, los cuales tienen propiedades antimicóticas ¹¹.

Se conoce que el limoneno, el α -pineno y el β -pineno actúan inhibiendo el consumo de oxígeno en las células y debido a esa interacción provoca lesiones en la membrana citoplasmática y evitaría la ósmosis, la síntesis de esteroides y fosfolípidos, ocasionando así alteraciones en la composición interna de la célula micótica ¹¹. Así

mismo en el trabajo de Chamorro, et al. (2008) dentro de los compuestos obtenidos se encuentran limoneno, β -ocimeno, dihidrotagetona, tagetona y tagetenona, por ello se confirma que la actividad antifúngica se basa en compuestos bioactivos ³⁶.

En un estudio realizado por Tuyo¹¹ el año 2015, determinó que para *Cándida albicans* la CMI era 2,8728 mg/ μ l y CMF de 3,2886 mg/ml con respecto al aceite esencial de *Tagetes minuta* L. “Huacatay”, referencia que se utilizó para elaborar el ungüento a concentraciones 3 y 6 %, demostrando su efectividad “*in vivo*”.

En la Tabla 6, tras el tratamiento con los ungüentos de 3, 6 % de “Huacatay” y el Clotrimazol 1 % frente a la *Cándida Albicans* ATCC 6538 en ratas albinas, pudo apreciarse la inhibición del crecimiento de *Cándida albicans* ATCC 6538 con un resultado de 0,00 UFC en medio Agar Sabouraud, para los ungüentos de Huacatay, siendo éste un medio de amplia utilización y parcialmente selectivo para hongos debido a su bajo pH y alta concentración de glucosa. Dado que muchas bacterias toleran el bajo pH y la alta concentración de glucosa y crecen en este agar. Los ungüentos al 3 y 6 % demostraron su efectividad antimicótica considerablemente buena.

Por otro lado, en la Tabla 7, se observa la efectividad antimicótica del Clotrimazol 1 %, inhibición del crecimiento de *Cándida* que se demostró por un tratamiento adecuado. El Cotrimazol 1 % es un buen antifúngico debido a que actúa alterando la membrana de los hongos sensibles, inhibe la síntesis del ergosterol al interaccionar con la 14-alfametilasa, una enzima del citocromo P450 que es necesaria para transformar el lanosterol a ergosterol, un componente esencial de la membrana, interrumpiendo así el crecimiento del hongo.

Finalmente se comprueba la efectividad antimicótica "*in vivo*" de los ungentos a base del aceite esencial de "*Huacatay*" debido a sus propiedades fisicoquímicas. Los terpenoides sirven como un ejemplo de agentes liposolubles, los cuales afectan la actividad de las enzimas catalizadoras a nivel de membrana, por ej. Ciertos componentes del aceite esencial pueden actuar como desacopladores, los cuales interfieren en la translocación de protones sobre la membrana y subsecuentemente interrumpir por la fosforilación del ADP ³⁷.

Los resultados obtenidos con el "*Huacatay*" también podrían deberse a la composición de la membrana del hongo y su interacción con los componentes fitoquímicos del aceite esencial de "*Huacatay*" como el limoneno y el β -pineno que se presume penetró rápidamente a

las células del hongo, indicando que el efecto fungicida resultaría de una extensiva lesión de su membrana celular.

La sensibilidad de *Cándida albicans* frente a la inhibición del aceite esencial de “*Huacatay*” también puede ser explicado por los mecanismos de daño a la pared celular fúngica, debido al incremento de su permeabilidad y la afectación de su estructura, que como consecuencia tendría lugar una fuga de iones y de otros contenidos celulares, de forma más o menos intensa, que puede llevar a la muerte celular. Este daño se podría generar por la desestabilización de la pared celular compuesta por manan, glucán y quitina, debido a la interacción de los terpenos presentes en el aceite esencial, con las moléculas de la pared ¹². El presente estudio demostró que el potencial antimicótico del fitofármaco del aceite esencial de *Tagetes minuta* L. no depende solo de la composición química del aceite, sino también de la estructura celular del microorganismo.

CONCLUSIONES

- PRIMERA.** Se determinó que el ungüento a base del aceite esencial de *Tagetes minuta* L. “*Huacatay*” presenta considerable efecto antimicótico frente a *Cándida albicans* en lesión cutánea.
- SEGUNDA.** El ungüento a base del aceite esencial de *Tagetes minuta* L. es elaborado a 3 y 6 % con buena estabilidad, consistencia y agradables características organolépticas.
- TERCERA.** Los resultados del estudio en Agar Sabouraud demuestran que el ungüento de “*Huacatay*” al 3 y 6 % produce disminución en la formación de colonias según los días de tratamiento.
- CUARTA.** Se demuestra que el ungüento al 3 y 6 % produce mejor curación de micosis por *Cándida albicans* en la segunda semana de tratamiento a diferencia del Clotrimazol 1 % en crema que logra una mejoría de cicatrización a más de dos semanas de tratamiento.

RECOMENDACIONES

- PRIMERA.** Realizar otra forma de extracción o utilizando diferentes partes del vegetal de *Tagetes minuta* L “*Huacatay*”, para las pruebas de comparación y cómo variarían su efecto antimicótico frente a *Cándidas*.
- SEGUNDA.** Se recomienda elaborar una forma farmacéutica a base del aceite esencial de “*Huacatay*” estable y económica como alternativo frente a tratamientos antimicóticos convencionales.
- TERCERA.** Se sugiere realizar estudios sobre el uso del aceite esencial de “*Huacatay*” frente a otro tipo de hongos.
- CUARTA.** Realizar un estudio sobre la forma de uso del aceite esencial de “*Huacatay*” para contrarrestar infecciones micóticas internos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. OMS. 1979. Plantas medicinales: un modelo de curación, clasificación popular correlativa de plantas y enfermedades en una comunidad rural andino-venezolano. Informes técnicos. Vol. II N° 6.
2. La_Investigación_etnobotánica_sobre_plantas_medicinales_U a_revi_sion_de_sus_objetivos_y_enfoques_actuales [accessed Aug 3, 2017]. Disponible en :
https://www.researchgate.net/publication/46416826_
3. Navarro G, Gonzales A, Fuentes M, Avilés M, Ríos M, Zepeda G, Rojas M. Antifungal activities of nine traditional Mexican medicinal plants. J Ethnopharmacology. En 2003. p. 85-89
4. Morón F, Jardines J. La medicina tradicional en las universidades médicas. Rev Cubana Plant Med [Internet]. 1997; 2(1): 35-41.
Chávez A, Mendoza C, Morales A, Papic Z, Benveniste S. Infección osteoarticular por *Cándida albicans*. Rev. chil. infectol. 2000; 17 (4): 340-343. Disponible en
[https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182000000400010&lng=es.](https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182000000400010&lng=es) <http://dx.doi.org/10.4067/S0716-10182000000400010>
5. Zurita S. Situación de la resistencia antifúngica de especies del género *Cándida* en Perú. Rev. Perú. med. exp. salud pública. 2018;

- 35(1): 126-131. Disponible en:
http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S172646342018000100019&lng=es.
<http://dx.doi.org/10.17843/rpmesp.2018.351.3563>.
6. Moscoso M. Secretos Medicinales de la flora.; 2002.
 7. Gallegos M. Las plantas medicinales: principal alternativa para el cuidado de la salud, en la población rural de Babahoyo, Ecuador. An. Fac. med. 2016 oct; 77(4): 327-332. Disponible en:
http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1025-55832016000400002&lng=es.
 8. Mendoza J, Ricardo E. Características fisicoquímicas del aceite esencial y determinación del porcentaje relativo de sus componentes hidrocarbonados y oxigenados de la hoja de *Tagetes minuta* L. (Huacatay).; 2019.
 9. Aguilar D. Efecto del extracto etanólico de *tropaeolum majus* “mastuerzo” sobre micosis inducida por trychophyton mentagrophytes en *rattus norvegicus*.; 2015.
 10. Pure N. Efecto de la concentración del aceite esencial de las hojas del *Tagetes minuta* (huacatay) sobre su actividad antimicrobiana).;2018.
 11. Tuyo L. Efecto de la actividad antimicótica “in vitro” del aceite esencial de *Tagetes minuta* L. “huacatay” frente a *Cándida albicans*.; 2015.

12. Vargas A. Efecto antibacteriano del aceite esencial de *Tagetes minuta*, sobre el crecimiento de *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi* y *Bacillus cereus*.; 2013,
13. Giacone L. et al, Estudio de *Tagetes minuta* L. como fuente de moléculas fotosensibilizantes para aplicación en quimioterapia antifúngica fotodinámica.; 2019.
14. Cussa L. Toxicidad del aceite esencial de *Tagetes minuta* L. (asteraceae) obtenido de poblaciones silvestres y cultivadas.; 2017.
15. Baca W. Estudio comparativo del aceite esencial de Huacatay (*Tagetes minuta*) de la región de Amazonas por cromatografía líquida de alta resolución. Tesis para optar el título de Ingeniero Agroindustrial. Amazonas, Perú.; 2018.
16. Del fueyo G. 1986. Ontogenia de las glándulas foliares e involucrales de *Tagetes minuta* (Compositae). Bol. Soc. Argent. Bot.; 1986.
17. <https://www.indecopi.gob.pe/documents/20791/3180041/huacatay.pdf/34301a4a-8f44-7402-4442-ebb6487dee0a>
18. Martínez A. Aceites esenciales. J. Nat. Prod, 1996; 59(1), 77-79.
19. <file:///E:/pdf%20de%20ayuda%20tesis%20mery/Candida%20albicans.Pdf>
20. Pardi G, Cardozo E. Algunas consideraciones sobre *Cándida albicans* como agente etiológico de candidiasis bucal, Acta Odontológica Venezolana, volumen 40 N° 1 / 2002. Disponible en:

https://www.actaodontologica.com/ediciones/2002/1/algunas_consideraciones_candida_albicans.asp

21. Fidel P, Vázquez J, Sobel J. 1999. *Cándida glabrata*: review of epidemiology, pathogenesis, and clinical disease with comparison to *C. albicans*. Clin. Microbiol. Rev.1990; 12: 80- 96.
22. Ostrosky Z. New approaches to the risk of *Cándida* in the intensive care unit. Curr. Opin. Infect. Dis.2003; 16: 533-537.
23. Schwesinger G., Junghans D., Schroder G., Bernhardt H, Knoke M. Candidiasis and aspergillosis as autopsy findings from 1994 to 2003. Mycoses,2005; 48: 176-180.
24. Koneman A. "Diagnóstico Microbiológico" Texto y Atlas en color-6ta Edición. Editorial médica Panamericana.; 1987.
25. Verduyn L, Meis J, Voss A. Nosocomial fungal infections: candidemia. Diagn Microbiol Infect Dis. 1999; 34(3):213-20.
26. Edwards J, Mandell G, Bennett J, Dolin R. *Cándida* species. Diseases. PaPol, editor. Philadelphia.; 2009.
27. Gentry L, Price M. Urinary and genital *Candida* infections. Bodey GPyF, 5, editor. New York: Candidiasis. Raven Press; 1985.
28. Fidel P, Sobel J. Immunopathogenesis of recurrent Vulvovaginal candidiasis. Clin Microbiol Rev. 1996; 9(3):335-48.
29. Kauffman C. Diagnosis and management of fungal urinary tract infection. Infect Dis Clin North Am. 2014; 28(1):61-74.

30. Ono F, Yasumoto S. [Genital candidiasis]. Nihon Rinsho. 2009; 67(1):157- 61.
31. Kauffman C, Fisher J, Sobel J, Newman C. Cándida urinary tract infections--diagnosis. Clin Infect Dis. 2011; 52 Suppl 6: S452-6.
32. Prof. Dr. Allevato A, Prof. Dr. Negroni R y Prof. Dr. Galimberti R. Act Terap Dermatol 2007; 30:
http://www.atdermae.com/pdfs/atd_30_01_02.pdf
33. Kiran G, Babu V. Kaul. Variations in quantitative and qualitative characteristics of wild marigold (*Tagetes minuta* L.) oils distilled under vacuum and at NTP.; 2007.
34. Chamorro E, et al. chemical composition of essential oil from *Tagetes minuta* L. leaves and flowers Vol. 96 - N° (1-2), 80-86.; 2008.
35. Cano C, Bonilla P, Roque M, Ruiz J. Actividad antimicótica in vitro y metabolitos del aceite esencial de las hojas de *Mintostachys mollis* (muña). Rev. Perú. med. exp. salud pública [Internet]. 2008 Jul [citado 2019 Nov 17]; 25(3): 298-301. Disponible en:
http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46342008000300008&lng=es.
36. Sánchez O. S. Flora del valle de México. Tomo I. Cuarta edición. Editorial Herrera.; 1980.

ANEXOS

Anexo 1. Matriz de consistencia: efecto antimicótico “*in vivo*” del ungüento a base del aceite esencial de *Tagetes minuta* L. “*huacatay*” frente a *Cándida albicans* ATCC 6538 en ratas albinas

PROBLEMAS	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	VARIABLES	METODOLOGÍA
<p>PROBLEMA PRINCIPAL ¿Cuál es el efecto antimicótico “<i>in vivo</i>” del ungüento a base de aceite esencial de <i>Tagetes minuta</i> L. frente a <i>Cándida albicans</i> ATCC 6538 en ratas albinas?</p> <p>PROBLEMAS ESPECÍFICOS</p> <ul style="list-style-type: none"> - ¿A qué concentración puede elaborarse el ungüento a base del aceite esencial de <i>Tagetes minuta</i> L. para su aplicación tópica? - ¿Cuál será el resultado del efecto antimicótico del ungüento a base del aceite esencial de <i>Tagetes minuta</i> L. mediante la evaluación en agar Sabouraud? - ¿Qué relación existe entre las concentraciones del grupo experimental con el grupo positivo? 	<p>OBJETIVO PRINCIPAL Evaluar el efecto antimicótico “<i>in vivo</i>” del ungüento a base del aceite esencial de <i>Tagetes minuta</i> L. frente a la <i>Cándida albicans</i> ATCC 6538 en ratas albinas.</p> <p>OBJETIVOS ESPECÍFICOS</p> <ul style="list-style-type: none"> - Elaborar el ungüento a base del aceite esencial de las hojas de <i>Tagetes minuta</i> L. a dos concentraciones para su aplicación tópica. - Evaluar la efectividad del ungüento a base del aceite esencial de las hojas de <i>Tagetes minuta</i> L. mediante el recuento de colonias (UFC) en agar Sabouraud. - Comparar el efecto antimicótico para las dos concentraciones del control experimental en comparación con el control positivo. 	<p>HIPÓTESIS GENERAL El ungüento a base del aceite esencial de las hojas de <i>Tagetes minuta</i> L. “<i>Huacatay</i>” tiene efecto antimicótico en lesiones de piel producida por <i>Cándida albicans</i> en ratas albinas.</p>	<p>VARIABLE DEPENDIENTE <i>Cándida albicans</i></p> <p>VARIABLE INDEPENDIENTE Efecto antimicótico del Ungüento a base del aceite esencial de las hojas de <i>Tagetes minuta</i> L.</p>	<p>TIPO DE INVESTIGACIÓN</p> <ul style="list-style-type: none"> - Según la intervención del investigador Es experimental - Según la planificación de las mediciones Es prospectivo - Según el número de mediciones Es longitudinal - Según el número de variables Es analítico <p>NIVEL DE INVESTIGACIÓN Explorativa</p> <p>DISEÑO DE INVESTIGACIÓN Experimental</p> <p>POBLACIÓN Y MUESTRA Población Compuesta por 25 ratas albinas Muestra se utilizaron 20 ratas albinas machos de aproximadamente tres meses de edad.</p> <p>TÉCNICA Arrastre de vapor Medio Agar Sabouraud</p> <p>ANÁLISIS ESTADÍSTICO Estadísticos descriptivo e inferencial</p>

Anexo 2. Evaluación antimicótica del ungüento a base del aceite esencial de las hojas de *Tagetes minuta* L. y Clotrimazol.

		Primer control		Segundo control		Tercer control	
	Grupo de muestra (n)	(ufc)	x	(ufc)	x	(ufc)	x
Clotrimazol 1 %	A						
	A						
	A						
	A						
	A						
Ungüento Huacatay 3 %	B						
	B						
	B						
	B						
	B						
Ungüento Huacatay 6 %	C						
	C						
	C						
	C						
	C						
Control positivo	D						
	D						
	D						
	D						
	D						

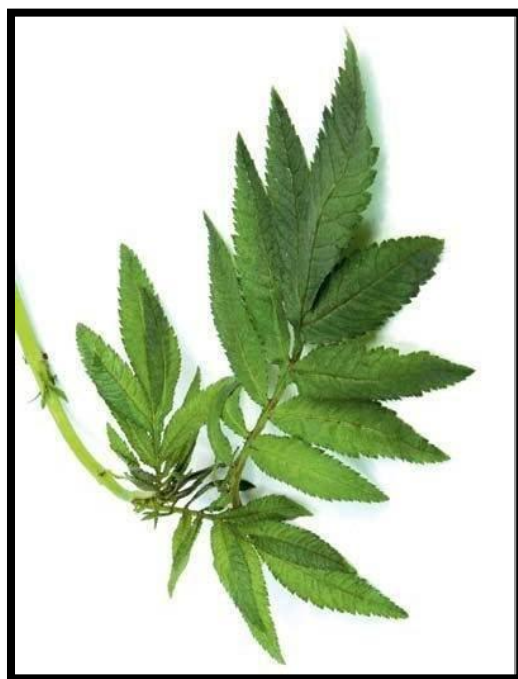
- n : Muestra
x : Promedio
Primer control : Toma de muestra sin tratamiento
Segundo control : Tomado 7 días después de tratamiento
Tercer control : Tomado 15 días después de tratamiento

Anexo 3. Partes de *Tagetes minuta* L. (Huacatay)



A

A. Flores *Tagetes minuta* L.



B

B. Ramas y hojas de *Tagetes minuta* L.

Anexo 4. Equipo de extracción para el aceite esencial de la planta *Tagetes minuta* L. “Huacatay” mediante el método de arrastre con vapor de agua.



Equipo de destilación



Aceite esencial de “*Huacatay*”

Anexo 5. Elaboración del ungüento del aceite esencial de *Tagetes minuta* L. (Huacatay) 3 % y 6 %



Fuente. Elaboración propia

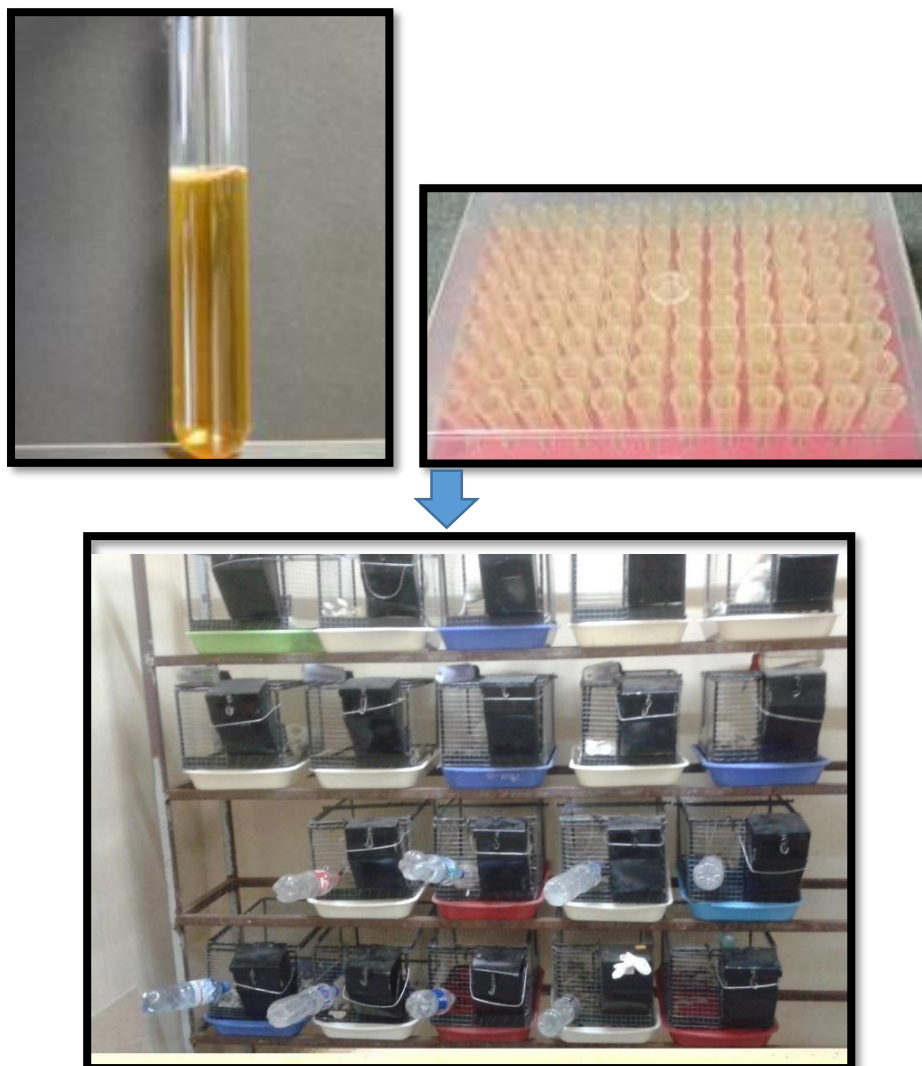
Anexo 6. Cepa micótica en estudio *Cándida albicans*, proporcionada por el MINSA-TACNA.



Cepa *Cándida albicans*

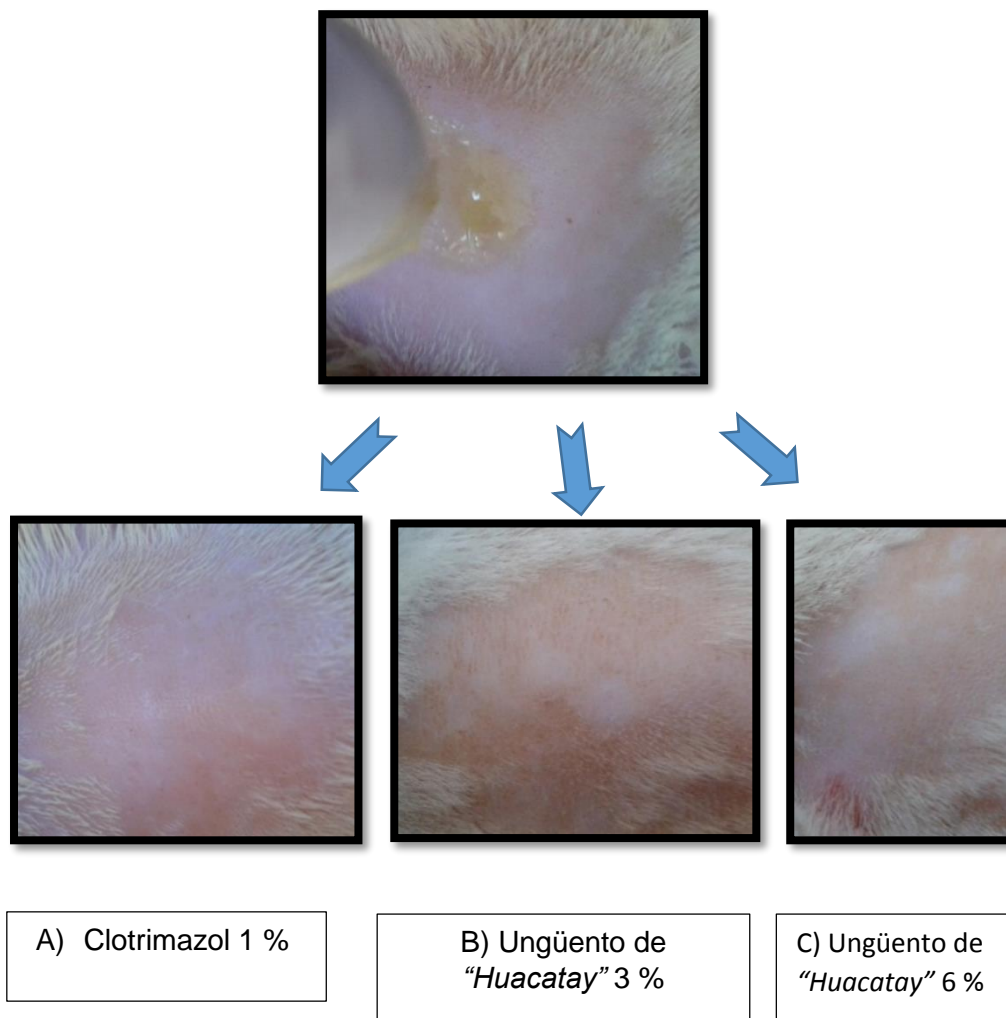
Fuente. Elaboración propia

Anexo 7. Infección de micosis *Cándida albicans* sobre la piel del animal de laboratorio en estudio (*rata albina*)



Fuente. Elaboración propia

Anexo 8. Tratamiento de la micosis con Clotrimazol 1 % y ungüentos de “*Huacatay*” 3 y 6 %



Fuente. Elaboración propio

Anexo 9. Susceptibilidad de *Cándida albicans* frente al tratamiento con Clotrimazol 1 % y ungentos de *Tagetes minuta* L. "Huacatay" 3 y 6 %



A



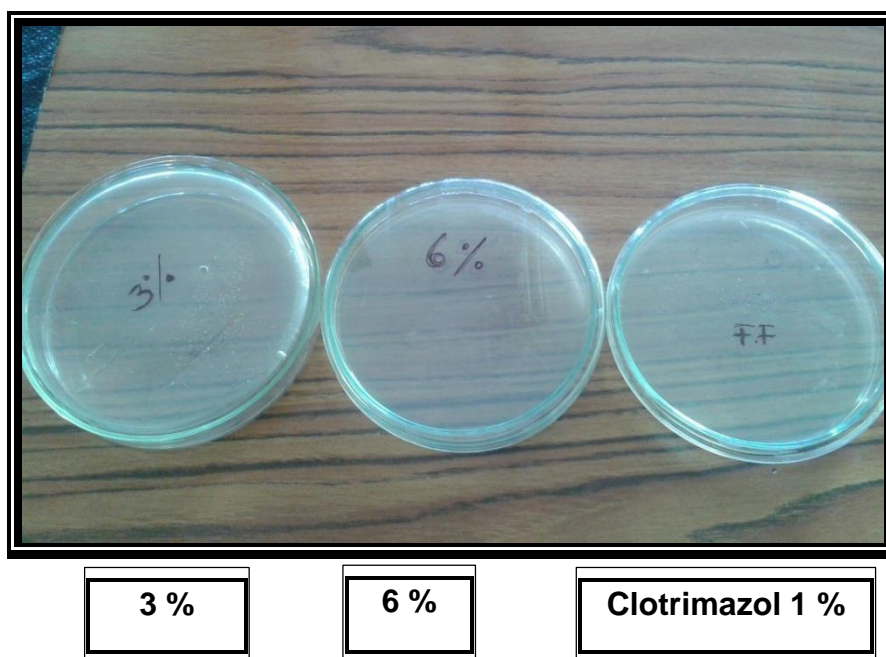
B



C

Fuente. Elaboración propia

Anexo 10. Susceptibilidad de *Cándida albicans* frente al tratamiento con Clotrimazol 1% y Ungüentos de 3 y 6 % de *Tagetes minuta* L. "Huacatay"
- lectura UFC agar Sabouraud.

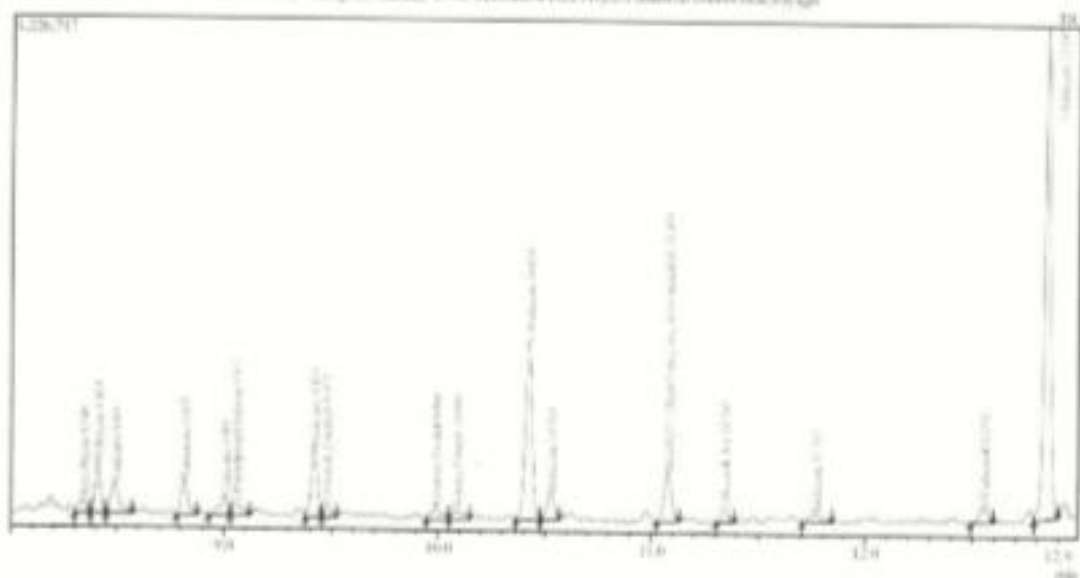


Fuente. Elaboración propia

I. ANALISIS FISICO - QUIMICO:

ANÁLISIS	RESULTADO																																						
<p>DETERMINACIÓN CUALITATIVA DE METABOLITOS SECUNDARIOS CROMATOGRAFÍA GASEOSA CON DETECCIÓN DE MASAS (DENOMINACION NIST)</p>	<p>.beta.-Pinene 1-Decene Undecane Limonene Undecane 2-Phenylpropyl butyrate Undecane 1-Octanol, 2-methyl- 4-Octyne-3,6-diol Nonane, 5-butyl- 1-Dodecene Dodecane Bicyclo[3.1.1]hept-3-en-2-one, 4,6, 2-Decenal, (E)- Tridecane 2-Undecenal 1-Tridecene</p>																																						
<p>DETERMINACIÓN CUANTITATIVA DE METABOLITOS SECUNDARIOS (%) CROMATOGRAFÍA GASEOSA CON DETECCIÓN DE MASAS, MÉTODO DE CUANTIFICACIÓN, POR NORMALIZACIÓN INTERNA (ÁREA)</p>	<table border="1"> <thead> <tr> <th data-bbox="692 1106 1145 1137">Name</th> <th data-bbox="1145 1106 1350 1137">%</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>.beta.-Pinene</td><td>1,54</td></tr> <tr><td>1-Decene</td><td>4,25</td></tr> <tr><td>Undecane</td><td>3,8</td></tr> <tr><td>Limonene</td><td>3,47</td></tr> <tr><td>Undecane</td><td>2,33</td></tr> <tr><td>2-Phenylpropyl butyrate</td><td>1,7</td></tr> <tr><td>Undecane</td><td>6,27</td></tr> <tr><td>1-Octanol, 2-methyl-</td><td>1,37</td></tr> <tr><td>4-Octyne-3,6-diol</td><td>1,68</td></tr> <tr><td>Nonane, 5-butyl-</td><td>1,38</td></tr> <tr><td>1-Dodecene</td><td>17,76</td></tr> <tr><td>Dodecane</td><td>3,09</td></tr> <tr><td>Bicyclo[3.1.1]hept-3-en-2-one, 4,6,</td><td>5,31</td></tr> <tr><td>2-Decenal, (E)-</td><td>1,2</td></tr> <tr><td>Tridecane</td><td>1,54</td></tr> <tr><td>2-Undecenal</td><td>1,93</td></tr> <tr><td>1-Tridecene</td><td>41,4</td></tr> <tr><td></td><td>100</td></tr> </tbody> </table>	Name	%	.beta.-Pinene	1,54	1-Decene	4,25	Undecane	3,8	Limonene	3,47	Undecane	2,33	2-Phenylpropyl butyrate	1,7	Undecane	6,27	1-Octanol, 2-methyl-	1,37	4-Octyne-3,6-diol	1,68	Nonane, 5-butyl-	1,38	1-Dodecene	17,76	Dodecane	3,09	Bicyclo[3.1.1]hept-3-en-2-one, 4,6,	5,31	2-Decenal, (E)-	1,2	Tridecane	1,54	2-Undecenal	1,93	1-Tridecene	41,4		100
Name	%																																						
.beta.-Pinene	1,54																																						
1-Decene	4,25																																						
Undecane	3,8																																						
Limonene	3,47																																						
Undecane	2,33																																						
2-Phenylpropyl butyrate	1,7																																						
Undecane	6,27																																						
1-Octanol, 2-methyl-	1,37																																						
4-Octyne-3,6-diol	1,68																																						
Nonane, 5-butyl-	1,38																																						
1-Dodecene	17,76																																						
Dodecane	3,09																																						
Bicyclo[3.1.1]hept-3-en-2-one, 4,6,	5,31																																						
2-Decenal, (E)-	1,2																																						
Tridecane	1,54																																						
2-Undecenal	1,93																																						
1-Tridecene	41,4																																						
	100																																						





Peak	R. Time	T. Time	F. Time	Area	Area%	Height	Height%	AI	Mark	Name
1	8.346	8.388	8.378	82745	1.54	34760	1.36	2.58	✓	Isa-Phosol
2	8.438	8.373	8.406	226718	4.25	334147	4.26	1.76	✓	Edoxane
3	8.491	8.494	8.575	344857	3.94	77218	3.42	2.68	✓	Edoxane
4	8.617	8.761	8.678	196879	3.47	95582	3.74	1.95	✓	Eparonate
5	8.983	8.938	8.938	125343	2.35	49487	1.76	2.76	✓	Edoxane
6	9.083	9.038	9.126	89322	1.76	12863	1.25	2.97	✓	2-Phenylpropylamine
7	9.426	9.388	9.455	117261	4.27	171256	6.73	1.97	✓	Edoxane
8	9.671	9.637	9.625	73166	1.37	31985	1.21	2.26	✓	1-(3-Oxobutyl)-2-methyl-2-butanol
9	9.966	9.947	10.038	48533	1.48	26264	1.83	1.88	✓	Edoxane
10	10.043	10.058	10.178	76547	1.38	21781	0.83	3.67	✓	Novum 7-Base
11	10.428	10.365	10.488	93419	1.75	49188	16.52	2.22	✓	1-Edoxane
12	10.528	10.488	10.578	168101	3.89	16668	2.89	2.42	✓	Edoxane
13	11.076	11.027	11.138	285655	8.31	181268	4.63	2.41	✓	Baclofen 1, 2-Diphenyl-2-propanol, 4-oxo
14	11.242	11.207	11.288	44033	1.26	28298	1.13	2.28	✓	2-Edoxane
15	11.767	11.765	11.847	62649	1.84	22546	6.88	3.67	✓	Edoxane
16	12.032	12.088	12.088	103992	1.93	35593	1.39	2.92	✓	2-Edoxane
17	12.427	12.768	12.968	2279818	41.48	1832265	81.24	1.98	✓	1-Edoxane
				5364266	100.00	2586612	100.00			

OBSERVACIONES:

Este documento al ser emitido sin el símbolo de acreditación, no se encuentra dentro del marco de la acreditación otorgada por INDECOPI-SNA

Q.F. Ricardo A. Abril Ramirez
 CIPDA 00624
 JEFE DE LABORATORIO LECC



Los resultados emitidos en el presente informe se relacionan únicamente a las muestras ensayadas. Este documento no debe ser reproducido, sin autorización escrita del Laboratorio de Ensayo y Control de Calidad

