



**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD ESCUELA PROFESIONAL DE
FARMACIA Y BIOQUIMICA**

**EFFECTO ANTIFÚNGICO IN VITRO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE
Ocimum micranthum Willd (Albahaca silvestre) PROVENIENTE DE LA
REGIÓN AMAZONAS FRENTE A *Cándida albicans*, 2022.**

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

AUTORES

Bach. ROMERO GOICOCHEA, DEYLI

<https://orcid.org/0009-0000-4197-9444>

Bach. BUSTAMANTE GUEVARA, ESNILDA LILIANA

<https://orcid.org/0009-0005-0873-8290>

ASESOR

Mg. VELARDE APAZA, LESLIE DIANA

<https://orcid.org/0000-0001-6031-6355>

Lima - Perú

2023

AUTORIZACIÓN Y DECLARACIÓN JURADA DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD

Yo, **DEYLI ROMERO GOICOCHEA**, con DNI **46695496**, en mi condición de autora de la tesis/ trabajo de investigación/ trabajo académico presentada para optar el Título profesional de “Químico Farmacéutico”, **AUTORIZO** a la Universidad María Auxiliadora (UMA) para publicar de manera indefinida en el repositorio institucional, el archivo digital que estoy entregando, en cumplimiento a la Ley N°30035 que regula el Repositorio Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación de acceso abierto y su respectivo Reglamento.

Asimismo, **DECLARO BAJO JURAMENTO**¹ que dicho documento es **ORIGINAL** con un porcentaje de similitud **23%** y, que se han respetado los derechos de autor en la elaboración del mismo. Además, recalcar que se está entregando la versión final del documento sustentado y aprobado por el jurado evaluador.

En señal de conformidad con lo autorizado y declarado, firmo el presente documento a los 22 días del mes de mayo del año 2023.



DEYLI ROMERO GOICOCHEA
DNI: 72944914



DR. LESLIE DIANA VELARDE APAZA
DNI: 72476825

1. Apellidos y Nombres
2. DNI
3. Grado o título profesional
4. Título del trabajo de Investigación
5. Porcentaje de similitud

¹ Se emite la presente declaración en virtud de lo dispuesto en el artículo 8°, numeral 8.2, tercer párrafo, del Reglamento del Registro Nacional de Trabajos conducentes a Grados y Títulos – RENATI, aprobado mediante Resolución de Consejo Directivo N° 033-2016-SUNEDU/CD, modificado por Resolución de Consejo Directivo N° 174- 2019-SUNEDU/CD y Resolución de Consejo Directivo N° 084-2022-SUNEDU/CD.

AUTORIZACIÓN Y DECLARACIÓN JURADA DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD

Yo, **ESNILDA LILIANA BUSTAMANTE GUEVARA**, con DNI **47561732**, en mi condición de autora de la tesis/ trabajo de investigación/ trabajo académico presentada para optar el Título profesional de “Químico Farmacéutico”, **AUTORIZO** a la Universidad María Auxiliadora (UMA) para publicar de manera indefinida en el repositorio institucional, el archivo digital que estoy entregando, en cumplimiento a la Ley N°30035 que regula el Repositorio Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación de acceso abierto y su respectivo Reglamento.

Asimismo, **DECLARO BAJO JURAMENTO²** que dicho documento es **ORIGINAL** con un porcentaje de similitud **23%** y, que se han respetado los derechos de autor en la elaboración del mismo. Además, recalcar que se está entregando la versión final del documento sustentado y aprobado por el jurado evaluador.

En señal de conformidad con lo autorizado y declarado, firmo el presente documento a los 22 días del mes de mayo del año 2023.



ESNILDA LILIANA BUSTAMANTE GUEVARA
DNI:47561732



DR. LESLIE DIANA VELARDE APAZA
DNI:72476825

6. Apellidos y Nombres
7. DNI
8. Grado o título profesional
9. Título del trabajo de Investigación
10. Porcentaje de similitud

² Se emite la presente declaración en virtud de lo dispuesto en el artículo 8°, numeral 8.2, tercer párrafo, del Reglamento del Registro Nacional de Trabajos conducentes a Grados y Títulos – RENATI, aprobado mediante Resolución de Consejo Directivo N° 033-2016-SUNEDU/CD, modificado por Resolución de Consejo Directivo N° 174-2019-SUNEDU/CD y Resolución de Consejo Directivo N° 084-2022-SUNEDU/CD.

INFORME DE ORIGINALIDAD-TURNITIN

BACHILLER: ROMERO GOICOCHEA DEYLI BACHILLER:
BUSTAMANTE GUEVARA ESNILDA LILIANA

INFORME DE ORIGINALIDAD



FUENTES PRIMARIAS

1	repositorio.uma.edu.pe Fuente de Internet	19%
2	hdl.handle.net Fuente de Internet	2%
3	repositorio.uoosevelt.edu.pe Fuente de Internet	1%
4	rpm.pe Fuente de Internet	1%
5	dspace.unapiquitos.edu.pe Fuente de Internet	1%

Excluir citas

Activo

Excluir coincidencias < 1%

Excluir bibliografía

Activo

AGRADECIMIENTO

A mí amado compañero Ricardo A. S.H y mi hijo por haberme apoyado siempre y por confiar plenamente en mí, hacerme cada vez mejor persona y que sin ellos no sería la persona que soy.

A mi madre, hermanas y familiares por sus valores brindados, así como su apoyo y compañía en cada parte de mi vida, y si un día llegan a leer esto quiero darles las gracias por formar parte de mi vida.

Deyli Romero Goicochea.

A mi amada hija, Nicol Barboza, por llegar a mi vida y ser mi motivo de superación personal, siempre contarás con todo mi apoyo hija y todo lo que hagas hazlo con esfuerzo y disciplina que lo lograrás, eres la mejor.

A mi pareja elegida, Heber Barboza, gracias por tu amor, apoyo y comprensión desde el momento que decidimos compartir nuestras vidas.

A mi querida madre, Olga Guevara, por su sacrificado cariño con tal de verme con un mejor futuro.

BUSTAMANTE GUEVARA, Esnilda Liliana.

DEDICATORIA

Este proyecto está dedicado a Ricardo y Heber por darnos todo lo que una persona necesita en la vida para ser feliz y por enseñarnos que la perseverancia y el trabajo duro es el secreto de todos los triunfos.

ÍNDICE

RESUMEN	1
ABSTRAC	2
I. INTRODUCCIÓN.....	3
II. MATERIALES Y MÉTODOS	11
II.1 Enfoque y diseño de la investigación	11
II.2 Población, muestra y muestreo	11
II.3 Variables de investigación.....	12
II.4 Técnicas e instrumentos para la recolección de datos	13
II.5 Plan metodológico para la recolección de datos	13
II.6 Procesamiento del análisis estadístico.....	17
II.7 Aspectos éticos	17
III. RESULTADOS	18
IV. DISCUSION.....	22
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	26
ANEXO A: Instrumento de recolección de datos	32
ANEXO B: Matriz de consistencia	34
ANEXO C: Operacionalización de las variables	35
Anexo D. Carta de aprobación de la Institución en la que se ejecutó el Proyecto de Tesis.....	37
ANEXO E. Constancia de la obtención de las cepas en estudio	38
Anexo F. Certificado de identificación botánica	39
Anexo G. Fotografías de la ejecución de la investigación	40

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de las hojas de <i>Ocimum micranthum</i> W. (albahaca silvestre)	18
Tabla 2. Promedio de halos de inhibición del Extracto etanólico de <i>Ocimum micranthum</i> sobre cepas de <i>Cándida albicans</i>	19
Tabla 3: Análisis de la varianza	20
Tabla 4. Prueba de significancia de Tukey (0.05) del promedio de halos de inhibición de las cepas de <i>Cándida albicans</i> frente al extracto etanólico de <i>Ocimum micranthum</i> W.....	21
Tabla 5: Prueba de significancia de Tukey (0.05) del promedio de halos de inhibición en las tres concentraciones 100%, 80%, 50%.....	21

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Recolección de la planta	40
Figura 2. Extracto etanólico <i>Ocimum micranthum</i> W.....	40
Figura 3. Preparación de la solución control – terbinafina.....	41
Figura 4. Análisis Fitoquímico	42
Figura 5: Preparación del inóculo - Cultivo de las cepas.....	43
Figura 6. Prueba de sensibilidad con los extractos en las placas.....	44
Figuras 7: Resultados	46

RESUMEN

Objetivo: Determinar la actividad antifúngica del extracto etanólico de las hojas de *Ocimum micranthum* W (albahaca silvestre) frente a *Cándida albicans*, In vitro.

Metodología: La investigación se basó en un enfoque cuantitativo, de diseño experimental, de estímulo creciente y de tipo prospectivo, la población de estudio estuvo conformada por 3 kg. de hojas de *Ocimum micranthum* W (Albahaca silvestre) obtenida de la provincia de Bagua, departamento de Amazonas, y por cepas de *Cándida albicans* procedentes de muestras clínicas. La obtención del extracto etanólico de hojas de *Ocimum micranthum*, se realizó por el método descrito por Gonzales (2004). La actividad antifúngica se evaluó mediante la técnica de difusión en disco de Kirby Bauer a través de la medición de los halos de inhibición.

Resultados: Los metabolitos secundarios identificados de las hojas del *Ocimum micranthum* W. (albahaca silvestre) que se encontraron de manera moderada fueron compuestos fenólicos (++) , alcaloides (++) , taninos (++) , escasos para, saponinas (+), flavonoides (+), triterpenos (+); y ausente para quinonas (-) y mucilagos (-). Los resultados de la actividad antifúngica del extracto etanólico de *Ocimum micranthum*, nos indican que a concentración del 50% no presenta efecto inhibitorio, pero sí a concentraciones del 80 y 100% con halos de inhibición de 8.11 mm y 8.78 mm respectivamente.

Conclusiones: Se determinó que las hojas presentaron metabolitos del tipo alcaloides, compuestos fenólicos taninos, flavonoides, etc., y la actividad antifúngica del extracto etanólico de las hojas de *Ocimum micranthum* W. (albahaca silvestre) frente a *Cándida albicans*, In vitro, a concentraciones de 80% y 100 %; mientras que el extracto etanólico de las hojas del *Ocimum micranthum* W al 50 % no presento actividad antifúngica in vitro.

Palabras clave: *Ocimum micranthum*, *O. campechianum* Mill, albahaca, *Cándida albicans*, actividad antifúngica, extracto etanólico.

ABSTRAC

Objective: To determine the antifungal activity of the ethanolic extract of the leaves of *Ocimum micranthum*. (wild basil) against *Candida albicans*, In vitro.

Methodology: The research was based on a quantitative approach, experimental design, increasing stimulus and prospective type, the study population consisted of 3 kg. of leaves of *Ocimum micranthum* W (Wild Basil) obtained in the district of Bagua, province of Bagua, department of Amazonas, and by strains of *Candida albicans* from clinical samples. The ethanolic extract of *Ocimum micranthum* leaves was obtained by the method described by Gonzales (2004). The antifungal activity was evaluated using the Kirby Bauer disk diffusion technique by measuring the inhibition halos.

Results: The secondary metabolites identified from the leaves of *Ocimum micranthum* W. (wild basil) that were moderately found were phenolic compounds (++) , alkaloids (++) , tannins (++) , low for amino acids (+) , saponins (+) , flavonoids (+) , triterpenes (+); and absent for quinones (-) and mucilages (-); the inhibition halos found for the ethanolic extracts of the leaves of *Ocimum micranthum* W. (wild basil) at a concentration of 50% were 7 mm in diameter, thus obtaining null sensitivity (-); while for the ethanolic extract of the leaves of *Ocimum micranthum* W at 80% and 100%, sensitivity was obtained, presenting inhibition halos of 8.11 mm and 8.78 mm in diameter, respectively.

Conclusions: It was determined that the leaves presented metabolites of the alkaloid type, phenolic compounds, tannins, flavonoids, etc., and the antifungal activity of the ethanolic extract of the leaves of *Ocimum micranthum* W. (wild basil) against *Candida albicans*, In vitro, at concentrations of 80% and 100%; while the ethanolic extract of the leaves of *Ocimum micranthum* W at 50 % did not present antifungal activity in vitro.

Keywords: *Ocimum micranthum*, *O. campechianum* Mill, wild, *Candida albicans*, antifungal activity, ethanolic extract.

I. INTRODUCCIÓN

La candidiasis es provocada por una levadura del género *Cándida*, las manifestaciones clínicas son variables, en donde *Cándida albicans* es la especie más frecuente en infecciones humanas; es un microorganismo que habita en la naturaleza en donde la infección puede venir desde estos elementos suelo, agua dulce, vegetales, frutas, granos y en general toda sustancia que contenga hidratos de carbono. Además, es un hongo que se encuentra de manera habitual en el aparato digestivo, respiratorio, cavidad vaginal, aunque en cantidades pequeñas en el ser humano, se considera un patógeno oportunista y las infecciones ocurren en personas inmunocomprometidas ⁽¹⁾.

En la actualidad se está observando cada vez más como las bacterias y los hongos se están haciendo resistentes a los agentes antimicrobianos, modificando su mecanismos de acción, alterando el sitio diana o modificando sus proteínas que permiten el ingreso de estos medicamentos al interior de la célula, comprometiendo de esta manera la salud de las personas, incrementando de esta manera la morbilidad y mortalidad a nivel de la comunidad como también a nivel nosocomial; las consecuencias clínicas de este problema se observan en los fallos de tratamiento farmacológico por ende en la prevalencia de las especies fúngicas, por lo que se hace necesario buscar nuevas alternativas para el tratamiento de estas infecciones fúngicas como son los extractos y aceites de plantas que tienen propiedades antimicrobianas y que son empleados en la medicina natural. ⁽²⁾.

Según la Organización mundial de la salud (OMS) las cepas fúngicas también han llegado a evolucionar con el tiempo, pero con menos impacto clínico y epidemiológico que las bacterias ⁽³⁾; sin embargo recientemente la OMS ha emitido una alerta dentro de las especies de *Cándida*, en donde la especie *Cándida auris* los hace ratificarse a la trascendencia en la actualidad de la resistencia a antifúngicos por hongos de importancia clínica ⁽⁴⁾; aunque la *Cándida albicans* no muestra resistencia aún; está incluida en la vigilancia para así poder detectarla a tiempo e implementar protocolos frente a los mecanismos emergentes de resistencia e intensificar medidas de prevención y control de infecciones ⁽⁵⁾, pues la tasa de mortalidad ha aumentado tras las

décadas encontrándose entre 30-60% y la incidencia de contagio se encuentra a nivel mundial entre 40-60% ⁽⁶⁾.

En Perú, se han reportado aumento de casos de candidiasis en pacientes críticos, en donde la candidemia es la forma clínica recurrente de infección que se encuentra en un 30%, siendo la forma más común de candidiasis invasiva, ingresando al torrente sanguíneo por el tracto gastrointestinal y la piel ⁽⁷⁾

En un estudio realizado en el Hospital Nacional Carlos Alberto Seguin Escobedo, un hospital de tercer nivel del sur del Perú, se encontraron en el periodo 2011-2014 a 77 pacientes con hemocultivos positivos para Candidiasis , en donde prevalece la *Cándida albicans* como la especie más frecuente con un 33- 46,5%, recordando que en el inició la tipificación de especies de cándida en el año 2011, actualmente, se desconoce las características de esta infección por los escasos estudios realizados ⁽⁸⁾.

La biodiversidad que presenta la amazonia peruana es muy extensa, en donde existen gran variedad de plantas medicinales, que ayudan a las poblaciones a solucionar sus problemas patológicos que estos presentan. Recordemos que gran parte de la población no acceden en su totalidad al acceso básico de los medicamentos, estos se ven obligados a utilizar los recursos naturales que proporciona la naturaleza. En donde el descubrimiento de proporcionar un tipo de acción a una planta es necesario para la administración y uso correcto de estas. Las plantas son el origen de descubrimientos de la gran mayoría de los medicamentos, las comunidades e incluso los hospitales hacen usos de estas por sus bajos efectos no deseados, por el bajo costo o el fácil acceso. Existen países que en sus petitorios han incluido el uso de recursos naturales como las plantas medicinales, para su tratamiento ya sea como un coadyuvante o tratamiento específico, en donde la OMS se ha visto en favor de esta iniciativa.

Los agentes microbiológicos tienden a ser diferentes en estados patológicos reales, porque estos se encuentran ya con algún tipo de información genética que los hace más ofensivos, su ADN ya reconoce acciones que su huésped lo ha sometido como medicamentos u otros agentes exógenos. Por ende, es necesario realizar estudios con microbios que hayan estado sometidos a

patologías reales con la finalidad de mostrar la acción efectiva de la planta frente a estos, necesariamente debemos considerar saber que un agente patógeno en su estado original es menos agresivo, pero no inofensivo, frente a un microorganismo manipulado de muestra clínica y de enfermos infecciosos. Los diferentes estudios realizados muestran que el *Ocimum micranthum Willd* presenta cualitativamente y cuantitativamente aceites, saponinas, lactonas, cumarinas, triterpenos, esteroides, azúcares reductores, resinas, aminoácidos o aminas libres y mucílagos ⁽⁹⁾, además eugenol, metileugenol y linalool, en donde la industria de alimentos y perfumes no ha quedado indiferente mientras que la medicina tradicional lo utiliza como extractos en tratamientos de problemas de vías respiratorias, reumatismo, parálisis, enfermedades mentales, además de contener compuestos biológicamente activos que se utilizan de forma natural como insecticida, nematocida, antimicrobiano ⁽¹⁰⁾ y una actividad antifúngica dependiente de la dosis contra levaduras patógenas y perjudiciales para los alimentos ⁽¹¹⁾ y los seres humanos.

Frente a esta problemática se formuló la siguiente pregunta principal de investigación

¿Presentará actividad antifúngica in vitro el extracto etanólico de las hojas de *Ocimum micranthum Willd* (albahaca silvestre) frente a *Cándida albicans*?

La acción antifúngica o antimicótica es una propiedad que se le atribuye a un compuesto o sustancia que tiene la capacidad de inhibir o matar a un hongo evitando la proliferación de este agente, que causa daño a su huésped. La intervención del antimicótico en el hongo se genera a partir de diferentes mecanismos en; su estructura inhibiendo el desarrollo, su viabilidad y capacidad de desarrollo de manera directa o indirecta ⁽¹²⁾.

Ocimum L. (*Lamiaceae*) es un género aromático perteneciente a la tribu casi exclusivamente tropical se reconoce 160 especies ⁽¹³⁾; sin embargo, Paton reconocen 64 especies en un resumen de clasificación y relaciones dentro de *Ocimum* ⁽¹⁴⁾. Esta gran discrepancia demuestra claramente que la circunscripción genérica es problemática. *Ocimum* crece naturalmente en América tropical y subtropical (Caribe hasta Perú), África y Asia, no hay completa revisión

taxonómica del género, solo revisiones regionales ⁽¹⁵⁾.

Ocimum micranthum Willd, la albahaca de campo es un arbusto 30-60 cm de altura, con hojas pequeña (cerca de 3 pulgadas de largo por 1,5 pulgadas de ancho), ovalada, con pecíolo bordes cortos y ligeramente dentados y pecioladas, ovada, puntiaguda y ligeramente pubescente. Es muy aromática, rica en aceite esencial ⁽¹⁶⁾. Por otro lado, su flor compuesta de 4 sépalos superiores y 1 sépalo inferior; corola de 4 pétalos y 1 pétalo inferior con tricomas largos y abundantes. Los cuatro estambres es de color morado, didínamos; con pistilo bífido y de color morado de tallo cuadrangular, con cuatro canales morados y pubescentes ⁽¹⁷⁾.

Muchos estudios demuestran su composición química que presenta *Ocimum micranthum Willd*, y especialmente en los compuestos volátiles en el aceite esencial de la especie *micranthum*, algunos autores identificaron compuestos mayoritarios como el β -cariofileno, el metil eugenol, el eugenol y en porcentajes menores, el espatulenol y el óxido de cariofileno.

Mientras que en el extracto etanólico encontraron metabólicos secundarios como eugenol, β -cariofileno, ácido benzoico, metil eugenol, ácido dodecanoico y espatulenol. Finalmente, en el extracto acuoso eugenol, 2,2-dimetil-4-(metiletil)-2H-imidazol, alcohol fenético, metil eugenol y catecol, compuestos que han mostrado actividad antimicrobiana ⁽¹⁸⁾.

Además, según los estudios y siendo el metil eugenol y el eugenol presente en todas las extracciones tanto del aceite esencial, extracto etanólico y extracto acuoso se le puede atribuir su propiedad antibacteriana y antifúngica ⁽¹⁹⁾.

La *Cándida albicans* está en el organismo como componente normal de flora comensal en los humanos; en el aparato digestivo, respiratorio y regiones mucocutáneas, pero cuando se propaga a otras tejidos o áreas provoca candidiasis vaginal, oral y sistémica esta última tiende a ser más seria ya que comúnmente se aprovecha de los inmunocomprometidos cuando estos se encuentran en los hospitales, pues este agente también se encuentra en los pisos, equipamiento médico, catéteres de los hospitales siendo un hongo importante causante de las infecciones nosocomial ⁽²⁰⁾.

El presente estudio se sustentará con antecedentes internacionales como:

Sacchetti *et al.* (2004) Brasil. Determinó sus propiedades por su composición química encontrando 31 compuestos. Los componentes principales fueron eugenol ($46,55 \pm 5,11\%$), β -cariofileno ($11,94 \pm 1,31\%$) y β -elemeno ($9,06 \pm 0,99\%$), mientras que una pequeña cantidad se detectó linalool ($1,49 \pm 0,16 \%$). En donde el aceite mostró una notable capacidad antioxidante por el α -caroteno ($2,39 \pm 0,1$) que poseía; además de su acción bacteriana y fúngica ⁽²¹⁾.

Silva *et al.* (2013) Brasil. Mediante un estudio por búsqueda de revista científicas, a la familia *Asteraceae* e *Lamiaceae* usadas en medicina tradicional, concluye que el *Ocimum micranthum* W es indicado para infecciones generales, tos, bronquitis ⁽²²⁾.

Kumar *et al.* (2014) asimismo, en una visión general, identifica por recopilación de datos, que mediante la utilización de la técnica de GC y GC-MS se logró determinar que la especie *Ocimum* presenta cuatro principales quimiotipos de aceites esenciales, metil chavicol, linalol, metil eugenol y metil cinamato, y diferentes subtipos de aceites; además se demostró que *Ocimum micranthum* W. tiene actividad antimicrobiana, antioxidante y analgésico ⁽²³⁾.

Jaramillo *et al.* (2014) en Colombia, mediante el proceso de hidrodestilación obtuvo el aceite esencial de las hojas del *Ocimum micranthum* W. en donde se demostró que presentaba metabolitos secundarios como ugenol, eucaliptol, cisb-terpineol y a-terpineol, a-cadineno; su efecto antifúngico se demostró contra el hongo *F. oxysporum* con un porcentaje de inhibición micelar de 98,8 % a 176,5 μ L de AE/L; *S. zeamais* de 66,7 % a 500 μ L de AE/L de aire ⁽²⁴⁾.

Caamal *et al.* (2018) , en México, demostró que solo el aceite esencial causo efecto fungicida, estos resultados sugieren que el aceite esencial y los extractos etanólico y acuosos de esta planta pueden producir un efecto fungicida o fungistático a bajas concentraciones en comparación con los niveles necesarios para provocar un efecto bacteriostático, los microorganismos utilizados en este estudio consistieron en dos cepas Gram-positivas (*Staphylococcus aureus* ATCC® 25973TM y *Bacillus subtilis* ATCC® 465 TM); una cepa Gram-negativa (*Pseudomonas aeruginosa* ATCC® 27,853 TM) y una cepa de hongo de levadura (*Cándida albicans* ATCC® 14,053 TM) ⁽¹⁸⁾

Acosta *et al.* (2021), finalmente en Ecuador, en un estudio fitoquímico mediante pruebas fisicoquímicas cualitativas, se evidenció que el *Ocimum micranthum W* en sus extracciones en medio etéreo, alcohólico y acuoso presenta aceites, saponinas, lactonas, cumarinas, triterpenos, esteroides, azúcares reductores, resinas, aminoácidos libres o aminas y mucílagos, según corresponda, lo que le proporciona beneficios microbianos ⁽⁹⁾.

A nivel nacional, se citan los siguientes autores:

Fuertes *et al.* (1992) demostrando en un estudio por medios cromatográficos y espectroscópicos que el aceite esencial proporciona acción antibacterial y antifúngica, determinando esta acción mediante excavación – placa cultivo frente a diferentes bacterias y hongos por la composición fitoquímica que esta presentaba y en especial el metileugenol, cariofileno, β elementos, entre otros⁽¹⁹⁾.

Herencia *et al.* (2018) por otro lado demuestra en un estudio con el decocto de un producto nutraceútico compuesto especialmente con *Ocimum micranthum W* presenta múltiples efectos biológicos como antiinflamatorio, antioxidante, antimicrobiano también muestra acción gastro protectora, lo que le se atribuye dichos beneficio por presentar ugenol, β cario-fileno y Biciclogermacrene⁽²⁵⁾

Wilson *et al.* (2022) finalmente mediante un estudio sobre el aceite esencial del *Ocimum micranthum W*. demuestra que existen múltiples quimiotipos dentro de las especies de plantas. Tomó tres muestras de tres regiones diferentes Pueblo Libre, el Diamante, Villa Rica en donde, el 55 % de las muestras son del quimiotipo eugenol (valores que oscilan entre 15,4 y 30,2 %), el 33 % son del quimiotipo metileugenol (valores que oscilan entre 68,1 y 68,7 %) y una sola muestra es una mezcla de ambos quimiotipos, que contiene altos niveles de tanto eugenol (38,1%) como metil eugenol (8,6%). Proporcionándole así beneficios terapéuticos ⁽²⁶⁾.

El objetivo general del estudio es:

Determinar la actividad antifúngica del extracto etanólico de las hojas de *Ocimum micranthum Willd* (albahaca silvestre) frente a *Cándida albicans*, In vitro.

Así mismo, la hipótesis general formulada del estudio es:

El extracto etanólico de las hojas de *Ocimum micranthum Willd* (albahaca silvestre) presentará actividad antifúngica frente a *Cándida albicans*, In vitro.

Este presente estudio tiene una justificación sustentada con el propósito de dar a conocer el efecto antifúngico del *Ocimum micranthum Willd* en donde se trabajó con muestras de pacientes que presentaban patologías clínicas por *Cándida albicans* lo que permite que nuestro estudio determine su acción con microorganismos que ya tienen antecedentes de haber estado en procesos patológicos en huéspedes, realizándose un estudio analítico cualitativo de la muestra fitoquímica de la especie *Ocimum micranthum Willd* en muestras biológicas; permitiendo encontrar un nuevo producto que se administre en patologías clínicas para el tratamiento terapéutico, así como también será una información útil y valiosa para estudios futuros.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

II.1 Enfoque y diseño de la investigación

El estudio es de enfoque cuantitativo, las variables del estudio luego de ser cuantificadas serán analizadas estadísticamente en base a sus valores numéricos obtenidos ⁽²⁷⁾.

El diseño metodológico es una investigación experimental, en la medida que las variables serán modificadas o manipuladas deliberadamente para determinar su relación de causalidad obtenidos luego del planteamiento del estudio en la etapa de ejecución ⁽²⁸⁾.

El tipo de investigación corresponde a corte transversal ya que presenta un doble propósito es descriptivo y analítico, prospectiva debido a que los datos serán recolectados en un solo periodo de tiempo y estos serán obtenidos luego del planteamiento del estudio en la etapa de ejecución ⁽²⁹⁾.

II.2 Población, muestra y muestreo

Población

Hojas pertenecientes a la especie *Ocimum micranthum Willd* colectadas en el centro poblado El Muyo, distrito de Bagua del departamento de Amazonas (Perú), se recolectaron en la temporada de invierno durante la etapa de floración, se colectó 3 kg para los análisis respectivos, junto con una muestra herborizada para la identificación de la especie colectada.

La identificación de la especie botánica se realizó por un profesional biólogo botánico con experiencia en identificación taxonómicas de especies vegetales encargado del Herbario de la universidad Pedro Ruiz Gallo.

Muestra

La cantidad de muestra necesaria para la investigación fue de 1 kilogramos de hojas de *Ocimum micranthum Willd*, después de aplicar los criterios de selección⁽³⁰⁾.

Criterio de inclusión:

Las hojas seleccionadas presentaron características similares en cuanto al peso, color, tamaño y sanidad de las hojas.

Criterio de exclusión:

Las hojas de diferente especie vegetal, o recolectadas en distinta ubicación geográfica, con signos de contaminación y/o deterioro.

Unidad de análisis

Estuvo conformada por *Cándida albicans*, aisladas de muestras clínicas, que fueron identificadas en el Laboratorio de Microbiología Clínica de la Facultad de Ciencias Biológicas. Esta unidad de análisis tuvo en consideración el control de calidad microbiológico indicado según los métodos estandarizados por el CLSI (Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio).

Muestreo seleccionado en la investigación es no probabilístico, por conveniencia debido a la facilidad de acceso y disponibilidad del investigador⁽³¹⁾.

II.3 Variables de investigación

Variable independiente: Extracto etanólico de las hojas de *Ocimum micranthum Willd* (albahaca).

Definición conceptual: Producto obtenido por proceso físico que contiene los metabolitos secundarios de *Ocimum micranthum Willd* (albahaca silvestre).

Definición operacional: Maceración con etanol 96° a temperatura ambiente.

La extracción se dio con el solvente orgánico etanol de 96° utilizando el método de maceración esto se realizó a temperatura ambiente, en donde el material vegetal se pulverizó agregándolo en un recipiente de vidrio con tapa, posteriormente se añadió el etanol de 96° se tapó y dejó reposar 14 días con agitación esporádica. Finalmente se filtró el líquido, se exprimió el residuo se recuperó el solvente, posteriormente se evaporó en una estufa y se obtuvo el extracto con los metabolitos ⁽³²⁾.

Variable dependiente: Actividad antifúngica frente a *Cándida albicans*, In vitro.

Definición conceptual: Inhibición en el crecimiento bacteriano de *Cándida albicans* mediante la acción del extracto.

Definición operacional: Medición del tamaño del halo de inhibición determinando la concentración mínima inhibitoria (CMI). Está definida como la concentración más baja de droga en donde previene el crecimiento visible de microorganismos entre 18 y 24 horas de cultivo. Es fácil de percibir que, si un antimicrobiano se mantiene en el organismo en concentraciones por encima de la CIM para determinada cepa, será capaz de inhibir el desarrollo de ese microorganismo con comodidad. ⁽³³⁾ ⁽³⁴⁾

II.4 Técnicas e instrumentos para la recolección de datos

La técnica es la observación ⁽³⁵⁾.

El instrumento es la ficha de recopilación de datos.

Ficha de recolección de datos – Microbiológica

Se registró los tamaños de los halos de inhibición obtenidos por medio del efecto del extracto, la cual constató de dos grupos dividido en experimentales (50%, 80 % y 100 %) y control (positivo). La ficha fue tomada del estudio de Fuertes R. (1999) ⁽¹⁹⁾ ⁽³⁶⁾.

Ficha de recolección de datos - Fitoquímico:

En la recolección de datos se registró los resultados obtenidos, donde se registraron los resultados obtenidos en cuanto al tipo de identificación del metabolito, el tipo de ensayo realizado, el color obtenido y la intensidad. La ficha fue adaptada del estudio de Acosta K, Zapata V. (2021). ⁽¹⁵⁾

II.5 Plan metodológico para la recolección de datos

II.5.1. Plan de elaboración del extracto etanólico:

Se realizó según el método propuesto por Benites et al. (2019) ⁽³⁷⁾, se tomaron 1000 gr de hojas seleccionadas, se lavaron con abundante agua y luego se desinfectaron con hipoclorito al 2% durante 6 minutos, posteriormente se procedió a remover el desinfectante enjuagando con agua destilada estéril por 3 veces para luego ponerse a secar bajo sombra sobre papel durante 5 días como promedio, las hojas luego fueron colocadas en estufa para su deshidratado completo y posteriormente fueron trituradas empleando un molino de cuchillas. Las hojas pulverizadas se colocaron en un frasco de vidrio de boca ancha para su maceración con etanol al 96° durante 7 días en un lugar oscuro alejado de la luz solar. Transcurrido el tiempo de maceración se filtró y se colocó en un crisol para su evaporación hasta obtener el extracto etanólico seco.

Preparación de la solución madre (100%)

Se pesó 5 gr del extracto etanolico de hojas de *Ocimum micranthum* y se diluyó con 5 ml de alcohol al 40°.

Preparación de las concentraciones de del extracto etanólico de *Ocimum micranthum*.

A partir de la solución madre, se realizaron diluciones del 80% y 50% con alcohol de 40° como diluyente.

Dilución al 50%

$$C_1.V_1 = C_2.V_2$$

$$100\%. V_1 = 50\%. 2\text{ml}$$

$$V_1 = \frac{50\% \cdot 2\text{ ml}}{100\%}$$

$V_1 = 1\text{ml}$ extracto etan. *Ocimum micranthum*

Completar 1 ml etanol 40°.

Dilución al 80%

$$C_1.V_1 = C_2.V_2$$

$$100\%. V_1 = 80\%. 2\text{ml}$$

$$V_1 = \frac{80\% \cdot 2\text{ ml}}{100\%}$$

$V_1 = 1.6\text{ml}$ extracto etan. *Ocimum micranthum*

Completar 0.4 ml etanol 40°.

II.5.2. Marcha fitoquímica

Para la marcha fitoquímica se utilizará el método de Pérez (2011) ⁽³⁸⁾ y Bermejo (2014) ⁽³⁹⁾ en su trabajo describen la siguiente metodología:

DEL EXTRACTO ETANOLICO

Ensayo de Liebermann- Burchard (triterpenos y/o esteroides)

Triterpenos y/o esteroides para identificarlos se realizó el ensayo de Liebermann-Burchard, en la cual agregamos en un tubo de ensayo 5 gotas de extracto, llevado a sequedad, luego agregamos 5 gotas de cloroformo (disolvemos), finalmente se agrega 1 ml ácido acético y agitamos. Por la pared del tubo de ensayo se dejó correr 3 gotas de ácido sulfúrico concentrado sin agitar. El cambio de coloración de rosado- azul, muy rápido; verde intenso visible, aunque rápido; verde oscuro- negro final esta última coloración de la reacción se produce porque presenta una gran cantidad de estos compuestos; como presentó una de las mencionadas coloraciones el ensayo fue positivo.

Ensayo de Shinoda (Flavonoides)

Este ensayo permite identificar la presencia de flavonoides en un extracto vegetal. Se tomo la alícuota del extracto que se encontraba en etanol, se diluyó con 1ml de ácido clorhídrico concentrado y se agregó un pedacito de cinta de magnesio metálica. Luego de la reacción se esperó por 5 min., se añadió 1ml de alcohol amílico, se mezclaron las fases dejando reposar hasta que las mismas se separen. El ensayo fue positivo cuando el alcohol amílico se torna naranja, siendo el caso.

Ensayo de cloruro férrico (taninos y/o fenoles)

En un tubo de ensayo se le agregó 5 gotas de extracto luego se le añadió 2 gotas de solución de FeCl 3%. La presencia de una coloración verde indicó taninos condensados.

Ensayo de Espuma

Este ensayo reconoce la presencia de saponinas, de tipo esteroideal como triterpénicas. Se tomó una alícuota de 1 ml que se encuentra en etanol, en un

tubo de ensayo se diluyó en 5 veces su volumen en agua y se agitó la mezcla fuertemente durante 7 min. El ensayo fue considerado positivo, apareció espuma en la superficie del líquido de más de 2 mm de espesor o altura y persistió por más de 2 min.

II.5.3. Actividad antifúngica

Preparación del inóculo fúngico

Las cepas de *Cándida albicans* se sembraron en placas de agar Sabouraud y se llevaron a incubación a 35°C durante 24 horas, luego se seleccionaron 3 colonias y se suspendieron en solución salina al 0.9% ajustando la turbidez al tubo 0.5 de la escala de Mac Farland.

Preparación de los Discos de susceptibilidad

Los discos fueron obtenidos perforando hojas de papel de filtro Whatman N°1 con ayuda de un perforador, luego se colocaron los discos en frascos de vidrio para ser esterilizados en horno a 180°C durante 2 horas. Posteriormente los discos fueron embebidos con 20ul de las diferentes concentraciones del extracto etanólico de *O. micranthum* (100%, 80%, 50%), dejándose secar por 5 minutos antes de ser empleados en la prueba de susceptibilidad. Se empleo un disco de terbinafina como control positivo.

Prueba de susceptibilidad antifúngica, método de Difusión en agar (disco) según Kirby Bauer.

Se realizó siguiendo los procedimientos empleados por Stela R (2009) ⁽³⁹⁾ ⁽⁴⁰⁾, para lo cual la determinación de la actividad antifúngica se realizó por medio de difusión en disco para lo cual primero se activó la cepa mediante la siembra de *Cándida albicans* en caldo Sabouraud y luego se repicó en agar Sabouraud, el cultivo se llevó a incubación por 24 horas a 36°C, luego de este periodo de tiempo se visualizó el crecimiento fúngico.

- Siembra

Con un hisopo estéril, se procedió a introducirlo en el tubo conteniendo el inóculo microbiano, se humedeció y luego se eliminó el exceso frotando el hisopo por las paredes del tubo. La siembra se realizó en tres direcciones con la finalidad de distribuir el inóculo en toda la superficie del agar Muller Hinton, se dejó secar 5 minutos y luego se colocó los discos embebidos con 20ul de cada una de las concentraciones del extracto etanólico de albahaca. Las placas se incubaron a 37 C durante 24 horas. Luego se procedieron a medir los halos de inhibición y se anotaron en fichas de datos.

II.6 Procesamiento del análisis estadístico

Los resultados de la actividad antifúngica del extracto etanólico de *Ocimum micranthum* fueron sometidos al Análisis de Varianza (ANOVA), este análisis se complementó con la prueba de Tukey con un nivel de significancia de 0.05; para lo cual se empleó el software estadístico SPS.

II. 7 Aspectos éticos

Dado que el estudio es de tipo experimental, in vitro con manejo de material biológico de alto riesgo se tomó y aplicó los criterios y principios de bioseguridad en el laboratorio siguiendo las guías y protocolos de los manuales internacionales en laboratorios de ensayo para evitar riesgo de los investigadores; así mismo, se dispondrá de procesos para evitar la contaminación del medio ambiente con la contaminación de residuos biológico mediante las normas establecidos por el Ministerio de Salud. Así mismo es necesario poner en conocimiento que los investigadores cumplieron con la originalidad del presente trabajo por lo cual son los únicos responsables de su contenido, sometiéndose a las normas y sanciones que estipule la universidad en caso de incurrir en falta.

III. RESULTADOS

III.1. Resultados sobre la marcha fitoquímica del extracto *Ocimum micranthum Willd.*

Tabla 1. Metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de las hojas de *Ocimum micranthum Willd.* (albahaca silvestre)

Metabolitos Secundarios	Reactivos	Indicadores	Resultado
Alcaloides	Dragendorff	Opalescencia (+)	++
Quinonas	Borntrager	Rosado (++) Rojo (+++)	-
Compuestos Fenólicos	FeCl ₃	Rojo-vino (+)	++
Taninos		Verde intenso (+) Azul (+)	++
Mucílagos		Consistencia gelatinosa (+)	-
Flavonoides	Shinoda	Amarillo - Naranja Carmelita o Rojo (+)	+
<u>Triterpenos</u>	Liebermann Burchard	Rosado-azul Verde intenso	+
/ Esteroides		Verde oscuro negro (+)	
Saponinas	Espuma	Presencia de espuma por más de 2 minutos.	+

Leyenda: Ausente (-), **Escasas** (+) **Moderado** (++) Abundante (+++)

Interpretación

En la tabla 1 presenta los resultados obtenidos luego del estudio fitoquímico realizado al extracto etanólico de las hojas de *Ocimum micranthum Willd.* (albahaca silvestre), se llegó a identificar mediante reacciones de coloración y precipitado la presencia de metabolitos secundarios como alcaloides, compuestos fenólicos, taninos, flavonoides, triterpenos aminoácidos, saponinas. Los metabolitos que presentaron una cantidad moderada en relación con la

intensidad del color estuvieron conformados por los alcaloides, compuestos fenólicos y taninos.

III.2. Resultados sobre la actividad antifúngica de los extractos etanólicos de las hojas de *Ocimum micranthum Willd.* (albahaca silvestre) a una concentración de 50%; 80% y 100% frente a *Cándida albicans*, In vitro.

Tabla 2. Promedio de halos de inhibición del Extracto etanólico de *Ocimum micranthum* sobre cepas de *Cándida albicans*.

Soluciones	Concentraciones	Promedio de los Halos de inhibición (mm)			
		<i>Cándida albicans</i>			
		<i>C.albicans</i> 01	<i>C.albicans</i> 02	<i>C.albicans</i> 03	Promedio (mm)
Extracto etanólico hojas <i>Ocimum micranthum W</i>	100 %	7.00mm	9.33 mm	10.00 mm	8.78 mm
Extracto etanólico hojas <i>Ocimum micranthum W</i>	80 %	7.00 mm	8.33 mm	9.00 mm	8.11mm
Extracto etanólico hojas <i>Ocimum micranthum W</i>	50 %	5.00 mm	7.33 mm	8.66 mm	7.00 mm
Terbinafina	2.5mg/ml	23.00 mm	23.00 mm	23.00 mm	23.00 mm

Fuente: Software estadístico SPSS

En la presente tabla se muestran los promedios de halos de inhibición del extracto etanólico de *O. micranthum* sobre las cepas de *C. albicans*, en donde se observa que las concentraciones que tuvieron mejor actividad fueron las de 80% y 100% con halos de inhibición de 8.11 mm y 8.78 mm. Cabe señalar también que el control positivo Terbinafina mantuvo su buena actividad de manera constante con promedios de halos de inhibición de 23 mm.

III.3. Análisis de varianza de los promedios de los Halos de inhibición de las cepas de *Cándida albicans* por el extracto etanólico de *Ocimum micranthum* willd.

Se evaluaron las siguientes variables como: Cepas, concentración e interacción cepa x concentración, mediante el análisis de varianza, observándose de que existen diferencias significativas entre las variables en estudio. (tabla 3)

Ho: No existen diferencias significativas entre las cepas estudiadas.

Ho: No existen diferencias significativas entre las concentraciones del extracto etanólico de *O. micranthum* willd.

Ho: No existen diferencias significativas entre las cepas y las concentraciones empleadas.

Tabla 3: Análisis de la varianza

EFEECTO	SC	GL	CM	F	P	Decisión
Cepa	39.41	2	19.074	11.565	<.001	Rechazar Ho
Concentración	14.52	2	7.259	4.261	0.031	Rechazar Ho
Cepa*Concentración	2.37	4	0.593	0.348/	0.842	Aceptar Ho
Error	30.67	18	1.704			

Fuente: Software estadístico SPSS

SC: Suma de cuadrados, GL: Grados de Libertad; CM: Cuadrado medio; F: Test;
P: Probabilidad

Interpretación

Los resultados del Análisis de varianza nos demostraron que las variables cepas y concentración existen diferencias significativas, pero no se observaron diferencias significativas entre la interacción cepa – concentración.

Tabla 4. Prueba de significancia de Tukey (0.05) del promedio de halos de inhibición de las cepas de *Cándida albicans* frente al extracto etanólico de *Ocimum micranthum Willd*

Cepas	Promedio de halos de inhibición	Significancia
1	6.33 mm	A
2	8.33 mm	b
3	9.22 mm	b

Fuente: Software estadístico SPSS

Interpretación

En los análisis de varianzas se observaron diferencias significativas entre las variables cepas, por lo que se sometieron a la prueba de significancia de Tukey para evaluar en donde se presentaban esas diferencias. Así en la presente tabla observamos que la cepa 001 presenta una mayor resistencia al efecto del extracto etanólico de *Ocimum micranthum W*; sin embargo, las cepas 002 y 003 presentaron un comportamiento similar frente al extracto etanólico de albahaca, siendo más sensibles.

Tabla 5: Prueba de significancia de Tukey (0.05) del promedio de halos de inhibición en las tres concentraciones 100%, 80%, 50%.

Concentración	Promedio de halos de inhibición	Significancia
50 %	7.00 mm	A
80 %	8.11 mm	A b
100 %	8.78 mm	b

Fuente: Software estadístico SPSS

Interpretación

En la tabla N° 5: se puede observar que la prueba de significancia de Tukey nos indica que la concentración de 50% es la que menos actividad antifúngica presenta frente a las cepas de *C. albicans*; sin embargo, conforme aumentan las concentraciones en efecto antifúngico es mejor como se evidencia en el promedio de los halos de inhibición

IV. DISCUSIÓN

IV.1. Discusión de los resultados

Las plantas medicinales siguen siendo una fuente de investigación en la búsqueda de nuevos principios activos, en donde son una alternativa para el tratamiento para diferentes patologías; en ese sentido, el presente trabajo de investigación busca a través de sus resultados ser una alternativa en el tratamiento de diferentes patologías como son las infecciones micóticas, específicamente las causadas por *Cándida albicans*, en ese sentido, se empleó como variable de estudio el extracto etanólico de *Ocimum micranthum Willd.* (Albahaca silvestre) y se evaluó su actividad antifúngica in vitro sobre cepas de *Cándida albicans* procedentes de muestras clínicas; los resultados encontrados en el presente estudio se discuten a continuación.

En relación con la presencia de los metabolitos secundarios encontrados en el extracto etanólico de *Ocimum micranthum Willd.* (albahaca silvestre) mediante el estudio fitoquímico se pudo comprobar la presencia de regular cantidad de alcaloides (++) , compuestos fenólicos (++) , taninos (++) y escasas cantidad de flavonoides (+) , triterpenos (+) , aminoácidos (+) , saponinas (+) . Estos metabolitos presentan afinidad por el solvente (etanol) empleado, por tal razón, fueron extraídos con este solvente, así mismo, los metabolitos secundarios son los componentes de las plantas que le infieren las propiedades medicinales. Caamal H. et al, (2018) mediante un estudio fitoquímico realizado al *Ocimum micranthum Willd* en un extracto etanólico, determina que las hojas de la especie lograron determinar la presencia de eugenol (18%), y metil eugenol (2%) perteneciendo al grupo de los compuestos fenólicos, β -cariofileno (6%) y espatulenol (1%) perteneciendo a los triterpeno , en donde los resultados se muestran similares a los encontrados en el presente estudio.

Por otro lado, Acosta K. et al (2021) en su estudio fitoquímico se logró determinar en una extracción acuosa y alcohólica la presencia de alcaloides, flavonoides, fenoles y taninos, antocianinas los cuales destacan por sus propiedades antibacterianas, lo que evidencia que estos metabolitos le confieren a esta planta propiedades contra diferentes microorganismos. Así mismo, el estudio realizado por Fuertes R (1999) en Perú, logró determinar en la misma planta, en una extracción de aceites esenciales la presencia de más de 36 compuestos

químicos incluyendo fenólicos, eucaliptol, benzaldehído, flavonoides, terpenoides, derivados de ácidos grasos, aceite esencial y esteroides, generando diversas acciones fito terapéuticas como antimicótica, antibacteriana, repelente y fumigante antiparasitario, resfríos entre otras. Las diferencias que presentan cada planta en relación con sus metabolitos secundarios se le atribuye al cultivo, geografía, clima, solvente.

Por otro lado, la actividad antifúngica de los extractos etanólico a la concentración del 50%, 80% y 100 % fue evaluado mediante el método in vitro de difusión en disco de Kirby Bauer, que nos permitió a través de la medición de los halos de inhibición interpretar si ha producido efecto antifúngico sobre *C. albicans*. Los resultados promedios encontrados para los grupos experimentales fueron de 7.00 mm de diámetro para el extracto etanólico de las hojas del *Ocimum micranthum W* al 50 %; de 8.11mm para el extracto etanólico al 80 %; de 8.78 mm para el extracto etanólico al 100 %; por lo que es probable que el efecto antifúngica del extracto etanólico puedan atribuirse no solo a la capacidad de resistencia de las cepas que al tener una procedencia clínica de pacientes recurrentes con esta patología y considerar que en algunos casos estos pacientes se tratan inicialmente con la medicina natural hace posible que hayan desarrollado resistencia a los principios activos; por otro lado se debe considerar que la planta en estudio es de tipo silvestre, cuyo desarrollo está supeditado a la naturaleza del terreno por lo que los principios activos se encuentren en pequeñas proporciones en comparación con otras especies de Albahaca que son cultivadas comercialmente.

Caamal H, et al (2018) mediante su estudio evaluaron la actividad antifúngica del extracto etanólico, acuoso y aceite del *Ocimum micranthum W* (albahaca silvestre) en donde la extracción etanólico y acuosa a la concentración del 0,25% y 4% sobre *Cándida albicans*, se obtuvieron resultados con valores de MIC 5 μ L/mL y 80 μ L/MI respectivamente sobre *C. albicans*, mientras que para el caso de *Staphylococcus aureus* , *Bacillus subtilis* y *Pseudomonas aeruginosa* , la CIM del extracto acuoso y etanólico fue de 125 μ L/mL.

Por otro lado, el aceite obtenido de la albahaca amazónica también fue estudiado por Fuertes R. et al (1999), quien evaluó la actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Ocimum micranthum W* a una concentración de 50 %, 20%,10%, 5%

y 1% presentando formación de halos de inhibición de 50 mm para toda la concentración; frente a la inhibición del crecimiento sobre *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Penicillium sp.*

El Análisis de varianza (ANOVA) utilizado para evaluar las variables en estudio nos indicaron que existen diferencias significativas entre las cepas de *Cándida albicans*; estas diferencias pueden explicarse por la procedencia de las cepas y por la exposición a diferentes tratamientos tanto naturales como farmacológicos a las que son expuestas; así mismo también se debe tener en cuenta la capacidad de estos hongos de desarrollar resistencia a diferentes productos antimicrobianos.

Al realizar el estudio comparativo de la actividad del extracto etanólico de las hojas del *O. micranthum* con la terbinafina se pudo determinar que este compuesto farmacológico tiene una mejor actividad antifúngica que el extracto etanólico probado.

IV.II. Conclusiones

- Se identificaron como metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de las hojas de *Ocimum micranthum W.* (albahaca silvestre) a compuestos fenólicos (++) , alcaloides (++) , taninos (++) , y escasos saponinas (+) , flavonoides (+) , triterpenos (+) .
- La actividad antifúngica del extracto etanólico de las hojas de *Ocimum micranthum W.* (albahaca silvestre) presentan poca actividad antifúngica a las concentraciones de 80% y 100% frente a 3 cepas de *Cándida albicans* con halos de inhibición promedios son de 8.11 mm de diámetro y 8.78 mm de diámetro respectivamente, mientras que para la concentración del 50% fue de 7 mm de diámetro, interpretándose como nula (-) .
- La terbinafina presentó una mejor actividad antifúngica con halos de 23 mm frente al extracto etanólico de *O. micranthum* .

IV.III. Recomendaciones

- Someter los extractos de *Ocimum micranthum Willd.* (albahaca silvestre) a diferentes microorganismos para evaluar su eficacia contra otros microorganismos y determinar su potencial efecto.
- Someter al *Ocimum micranthum Willd.* de utilizar otro tipo de solventes para definir posibles efectos antimicrobianos en próximas investigaciones.
- Realizar investigaciones similares, principalmente en el campo etnobotánico en las diferentes regiones de nuestro país en la búsqueda de nuevos compuestos antimicrobianos en general.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. British Society for immunology. [internet]. Londres: Sociedad Británica de Inmunología. [internet].; 2020 [citado el 02 julio 2022]. Drummond. R disponible en : <https://www.immunology.org/es/public-information/bitesized-immunology/pathogens-and-disease/candida-albicans>.
2. Quindos G, Ponton J. Mecanismos de resistencia a la terapéutica antifúngica. Med Clín. 2006; 126(1):1-65.
3. Quiñones Perez D. Resistencia antimicrobiana: evolución y perspectivas actuales ante el enfoque. Rev Cub de Med Trop. 2017 Diciembre; 69(2):1-17.
4. OPS: organización Panamericana de la Salud. [Internet] Colombia: Organización Panamericana de la Salud. [internet].; 2021 [citado el 7 junio 2022]. Disponible en: <https://www.paho.org/es/noticias/10-3-2021-candida-auris-patogeno-emergente-acciones-prevencion-colombia>.
5. OMS: Protocolo de implementación temprana para la inclusión de Cándida spp. [Internet] Ginebra: Organización Mundial de la Salud. [Internet].; 2019 [citado el 7 de junio 2022]. disponible en: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/326927/WHO-WSI-AMR-2019.4-spa.pdf?ua=1>.
6. Farias L, Garcia S, Tirabosch IN, Pizzi N, Fernandez NB. Epidemiología, especies, resistencia antifúngica y evolución de las candidemias en un hospital universitario de Buenos Aires, Argentina, durante 16 años. Revis. Chil Infec. 2017 Julio; 34(5).431-440.

7. Lazo V, Hernandez G, Mendez R. Candidiasis sistémica en pacientes críticos, factores predictores de riesgo. Horiz. Méd. 2018 Marzo; 18(1):1-11.
8. Moreno Loaiza M, Moreno Loaiza O. Características clínicas y epidemiológicas de la candidemia en pacientes de un hospital de tercer nivel del sur del Perú, 2011-2014. Act Méd Per. 2017 Diciembre; 34(4):289-293.
9. Acosta K, Zapata V, Miranda A, Mora J. Estudio farmacognóstico preliminar de *Ocimum micranthum* y *Eupatorium odoratum*, especies vegetales nativas de Esmeraldas (Ecuador). Perf. 2021 julio; 1(26):4-12.
10. Pereira R, Moreira M, Lima R. Cultivo de Alfavaca-deGalinha (*Ocimum micranthum* Willd). Embr Agro Ind. 2009:1-2.
11. Medici A, Maietti S, Sacchetti G, Radice M, Muzzoli M, Manfredini S, et al. Composición y Propiedades Funcionales del Aceite Esencial de Albahaca Amazónica, *Ocimum micranthum* Willd., Labiatae en Comparación con Aceites Esenciales Comerciales. Socie Quím Amer. 2004 Mayo; 52(11): 3486-3491.
12. Gregori Valdes BS. Estructura y actividad de los antifúngicos. Revis Cub de Farm. 2005 Mayo -agosto; 39(2):1-1
13. Pushpangadan P, Bradu. Avances en Horticultura: Plantas Medicinales y Aromática. 11^{va} ed. Chadha K, editor. Brasil: Malhotra Publishing House, Nueva Delhi; 2006. p. 935.
14. Paton A. Una sinopsis de *Ocimum* L. (*Labiatae*) en África. Kew Bull. 1992; 72(3): 403-435.
15. Leary N. Taxonomic revision of *Ocimum* (*Lamiaceae*) in Argentina. Jour of the Tor Bot Socie. 2017; 144(1): 74-87.

16. Acosta K, Zapata V, Miranda A, Mora J, Lajones A. Estudio farmacognóstico preliminar de *Ocimum micranthum* y *eupatorium odoratum*, especies vegetales nativas de esmeraldas (Ecuador). Rev Perf. 2021; 26(1): 4-12.
17. Moreno GV, Tamayo CH, Estrada E. morfología básica de 17 introducciones del género *Ocimum* en el departamento del Valle. Act. Aqron. 1987; 37(3): 34-42.
18. Caamal - Herrera I, Carrillo- Cocom L, Escalante- Rendiz D, Araiz- Hernandez D, Azamar -Barrios J. Antimicrobial and antiproliferative activity of essential oil, aqueous and ethanolic extracts of *Ocimum micranthum Willd* leaves. Med. comp. y alt. 2018 Febrero; 18(55): 1-9.
19. Fuertes- Ruiton CM, Roque -Alcarraz M, Sosa- Tananta C, Trujillo- Pantaja N. Constituyentes del aceite esencial de *Ocimum micranthum W.* y estudio antimicrobiano. [Tesis doctoral] Lima: Universidad Nacional de San Marcos, Facultad de Farmacia y bioquímica; 1999.
20. Panizo MM, Reviákina V. *Cándida albicans* y su efecto patógeno sobre las mucosas. Revis. de la Socie. Ven. de Microb. 2001 julio; 21(2): 38-45.
21. Sachetti G, Medici A, Radice M, Maietti S, Muzzoli M, Manfredini S, et al. Composición y propiedades funcionales del Aceite Esencial de Albahaca amazónica, *Ocimum micranthum Willd.*, Labiatae en comparación con aceites esenciales comerciales. Jour of agric and food chemist. 2004 Mayo; 52(11): 3486-3491.
22. Moura, RB; Silva, CI. Especies de *Asteraceae* y *Lamiaceae* Utilizadas en la Medicina Popular de la Región Sudeste para Problemas Respiratorios: Lo que Indica la Evidencia Científica. Revis Fitos, 2013, diciembre 6(1): 21-28.
23. Kumar Pandey A, Nath Tripathi N. Química y bioactividades de los aceites esenciales de algunas especies de *Ocimum*: una visión general. Asian Pacific Jour of Trop Biom. 2014 setiembre; 9(4): 682-694.

24. Delgado W, Duarte R E, Jaramillo CB. Bioactividad del aceite esencial de *Ocimum micranthum Willd* recolectado en el departamento de Bolívar, Colombia. Medigraphic: Revis Cub de Plan Medic. 2014; 19(2): 185-196
25. Herencia Reyes, V., Rivera, I., Correa Lopez, L. E., & De La Cruz Vargas, J. A. Efecto gastroprotector de un nutraceutico compuesto por *Ocimum micranthum Willd* (albahaca silvestre) frente a ulcers gástricas inducidas por etanol en ratas. Rev. peru. med. exp. salud pública, (2019). Enero: 91-97.
26. Wilson, TM, Murphy, BJ, Abad, A., Packer, C., Poulson, A. y Carlson, RE. Composición del aceite esencial y perfil de isótopos estables de *Ocimum campechianum Mill. (Lamiaceae)* cultivadas de Perú. Moléculas, (2022) Abril. 27 (9), 2777.
27. Cauas D. Definición de las variables, enfoque y tipo de investigación. Bogotá: biblioteca electrónica de la universidad Nacional de Colombia. 2015; 2: p. 1-11.
28. Ortega AO. Métodos para el diseño urbano–Arquitectónico. Enfoques de investigación. 2018.
29. Rodríguez M, Mendivelso F. Diseño de investigación de corte transversal. Rev. méd. sanit. 2018; 21(3): p. 141-146.
30. Rodríguez A, Carballo C, Hechevarría S, Acosta L. Ahorro de energía en el secado de plantas medicinales. Rev. Cub. de Plant. Med. 2005 enero- abril; 10(1): 0-0.
31. Scharager, J., & Reyes, P. Muestreo no probabilístico. Pontificia. Universidad Católica de Chile. 2001. 1(2): 1-3.
32. González-Villa Á. Obtención de aceites esenciales y extractos etanólicos de plantas del Amazonas. [Trabajo de grado]. Colombia: Universidad Nacional de Colombia Sede Manizales, Departamento de Ingeniería Química Ingeniería Química.; 2004.

33. Mota, L. M., Vilar, F. C., Dias, L. B., Nunes, T. F., & Moriguti, J. C. Uso racional de antimicrobianos. Brazil: Universidad de Sao Paolo 2010. [citado el 05 junio del 2022] disponible en: <https://www.revistas.usp.br/rmrp/article/view/175>
34. Canton E, Martin E, Espinel A Métodos estandarizados por el CLSI para el estudio de la sensibilidad a los antifúngicos (documentos M27-A3, M38-A y M44-A). Rev. Iber. de mic.2007. abril, 39(2): 29-56.
35. Lifeder. [Internet].; Madrid: Lifeder 2021 [citado 23 junio 2022]. disponible en : <https://www.lifeder.com/tecnicas-instrumentos-recoleccion-datos/>.
36. Benítez.B , Sarria Villa , Gallo Corredor Obtención y rendimiento del extracto etanólico de dos plantas medicinales. Revis facult de cienc básic. 2019 enero-junio; 15(1):31-40.
37. Pérez Azahuanche F, León Aponte G, Rodríguez Ávalo F, Vásquez Núñez L. Estudio fitoquímico preliminar de plantas medicinales del norte del Perú. Pueb. cont. 2011; 22(2): p. 421-426.
38. Bermejo de Zaa A, Pereira Cabrera S, Cintra Jorge ML, Morales Torres G. Determinación de parámetros químico- físico de las tinturas al 20% obtenidas de las hojas, tallos y frutos de Melia azedarach L (Pursiana). Rev haban. cienc. méd. 2014 sep - oct; 13(5):670-680.
39. Stella Ramirez L. Metodologías para evaluar in vitro la actividad antibacteriana de compuestos de origen vegetal. Dialnet: Scient. et Tech. 2009 Agosto,15(42), 263-268.
40. Hudzicki, J. Protocolo de prueba de susceptibilidad a la difusión por disco de Kirby-Bauer. Soc. Amer. de Microb. ,2009 Enero, 15: 55-63.

ANEXOS

ANEXO A: Instrumento de recolección de datos

ACTIVIDAD ANTIFUNGICA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS HOJAS DE <i>Ocimum micranthum will.</i> (ALBAHACA) FRENTE A <i>Cándida albicans</i>, IN VITRO					
Cepas <i>Cándida albicans</i>	Nº PLACAS	GRUPOS EXPERIMENTALES			GRUPO CONTROL
		100%	80%	50%	Control positivo Terbinafina
Cepa N°01	Placa nº 01	8.0mm	7.0 mm	5.0 mm	23.00 mm
	Placa nº 02	7.0mm	8.0 mm	5.0 mm	23. 00 mm
	Placa nº 03	6.0 mm	6.0 mm	5. 0 mm	23.00 mm
Cepa N°02	Placa nº 01	7.0 mm	7.0 mm	8. 0 mm	23.00 mm
	Placa nº 02	10.0 mm	8.0 mm	7. 0 mm	23. 00 mm
	Placa nº 03	11.0 mm	10. 0 mm	7. 0 mm	23.00 mm
Cepa N°03	Placa nº 01	9.0 mm	7. 0 mm	7. 0 mm	23.00 mm
	Placa nº 02	11.0 mm	10.0 mm	10.0 mm	23.00 mm
	Placa nº 03	10.0 mm	10. 0 mm	9.0 mm	23. 00 mm

ANEXO B: Matriz de consistencia

Formulación del problema	Objetivos	Hipótesis
Problema General	Objetivo General	Hipótesis General
¿ Presentará actividad antifúngica in vitro el extracto etanólico de las hojas de <i>Ocimum micranthum will</i> (albahaca silvestre) frente a <i>Cándida albicans</i> ?	Determinar la actividad antifúngica del extracto etanólico de las hojas de <i>Ocimum micranthum will</i> (albahaca silvestre) frente a <i>Cándida albicans</i> , in vitro.	El extracto etanólico de las hojas de <i>Ocimum micranthum will</i> (albahaca silvestre) presentará actividad antifúngica frente a <i>Cándida albicans</i> , In vitro.
Problemas Específicos	Objetivos Específicos	Hipótesis Específicas
¿Presentará actividad antifúngica los extractos etanólicos de las hojas de <i>Ocimum micranthum will</i> (albahaca silvestre) en concentraciones de 50mg/ml; 80mg/ml y 100mg/ml frente a <i>Candida albicans</i> , In vitro?	Determinar la actividad antifúngica de los extractos etanólicos de las hojas de <i>Ocimum micranthum will</i> (albahaca silvestre) a una concentración de 50%; 80% y 100% frente a <i>Cándida albicans</i> , In vitro.	Los extractos etanólicos de las hojas de <i>Ocimum micranthum will</i> . (albahaca) a una concentración de 50%; 80% y 100% presentan actividad antifúngica frente a <i>Cándida albicans</i> , In vitro
¿Cuál será el efecto de los extractos etanólicos de las hojas de <i>Ocimum micranthum will</i> ? (Albahaca silvestre) comparado con terbinafina frente a <i>Cándida albicans</i> , in vitro?	Comparar el efecto de los extractos etanólicos de las hojas de <i>Ocimum micranthum will</i> (albahaca silvestre) con terbinafina frente a <i>Cándida albicans</i> , In vitro	Los extractos etanólicos de las hojas de <i>Ocimum micranthum will</i> (albahaca silvestre) frente a <i>Cándida albicans</i> , In vitro presentan mayor actividad antifúngica que la terbinafina.

ANEXO C: Operacionalización de las variables

VARIABLES	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	DIMENSIONES	INDICADORES	ESCALA DE MEDICIÓN	N° DE ÍTEMS	VALOR
Extracto etanólico de las hojas de <i>Ocimum micranthum will.</i> (Albahaca silvestre).	Producto obtenido por proceso físico que contiene los metabolitos secundarios de <i>Ocimum micranthum Will.</i>	Maceración de las hojas de <i>Ocimum micranthum will.</i> con etanol	Concentración	Porcentaje	Razón	3	100 80 50
Actividad antifúngica frente a <i>Cándida albicans</i> , <i>In vitro</i> .	Efecto que inhibe el crecimiento fúngico de <i>Cándida albicans</i> , mediante una simulación en el laboratorio	Escala de Duraffourd	Halo de inhibición	Diámetro	Razón	4	≤ 8mm (-) 8mm-14mm (+) > 14 mm-20mm (++) > 20mm: (+++)

Anexo D. Carta de aprobación de la Institución en la que se ejecutó el Proyecto de Tesis.

UNIVERSIDAD NACIONAL PEDRO RUIZ GALLO

Facultad de Ciencias Biológicas

Departamento de Microbiología y Parasitología

CONSTANCIA

El que suscribe, MSc. *Mario Cecilio Moreno Montilla*, con DNI: 16505740, docente principal de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo y Jefe del Laboratorio de Microbiología Clínica, deja constancia que:

El trabajo de tesis "Efecto antifúngico in vitro del extracto etanólico de *Ocimum micranthum* Will (Albahaca silvestre) proveniente de la región Amazonas frente a *Candida albicans* 2022"; de las Bachilleres, Deyli Romero Goycochea y Esneida Liliann Bustamante Guevara, ha sido realizado en el Laboratorio de Microbiología Clínica del Departamento de Microbiología y Parasitología de la FCCBB siendo supervisado por mi persona.

Se expide la presente a solicitud de las interesadas.

Chiclayo 19 de Octubre del 2022


MSc. Mario Cecilio Moreno Montilla
Jefe de Laboratorio de Microbiología Clínica

ANEXO E. Constancia de la obtención de las cepas en estudio.

UNIVERSIDAD NACIONAL PEDRO RUIZ GALLO

Facultad de Ciencias Biológicas

Departamento de Microbiología y Parasitología

CONSTANCIA

El que suscribe, MSc. Mario Cecilio Moreno Mantilla, con DNI: 16505740, docente Principal de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo y Jefe del Laboratorio de Microbiología Clínica, deja constancia que:

Que las cepas de *Candida albicans* fueron aisladas de muestras clínicas, las cuales han sido utilizadas para el trabajo de Tesis: "Efecto antifúngico in vitro del extracto etanólico de *Ocimum micranthum* Will (Albahaca silvestre) proveniente de la región Amazonas frente a *Candida albicans*. 2022" y que forman parte del cepario del Laboratorio de Microbiología Clínica y que fueron solicitadas por las Bachilleres **Deyli Romero Goycochea** y **Esnilda Liliana Bustamante Guevara**.

Se expide la presente constancia a solicitud de las interesadas para los fines que crean convenientes.

Chiclayo 19 de Octubre del 2022


MSc. Mario Cecilio Moreno Mantilla
Jefe del Laboratorio de Microbiología Clínica

Anexo F. Certificado de identificación botánica



UNIVERSIDAD NACIONAL PEDRO RUIZ CALLO
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE BOTÁNICA



CONSTANCIA DE IDENTIFICACIÓN BOTÁNICA

El que suscribe, Dr. CESAR ESTELA CAMPOS, Profesor Principal a D.E del Departamento Académico de Botánica-Facultad de Ciencias Biológicas, UNPRG. Lambayeque,

HACE CONSTAR:

Que, del estudio botánico de las muestras enviadas por las Bachilleres Deyli Romero Goicochea y Esnilda Liliana Bustamante Guevara de la Universidad María Auxiliadora, para realizar su Trabajo de Investigación Científica, se determinó que corresponde a la:

Especie: *Ocimum micranthum* Willd. (albahaca de monte),

Sinónimo de *O. campechianum* Mill

Familia: Lamiaceae

Subfamilia: Nepetoideae

Orden: Lamiales

Clase :Magnoliopsida

División: Magnoliophyta

Se expide la presente constancia a solicitud de la parte interesada para los fines que estime conveniente.

Lambayeque, 24 de octubre del 2022.

Dr. CESAR ESTELA CAMPOS
Profesor Principal a D.E
Dpto Académico de Botánica

Anexo G. Fotografías de la ejecución de la investigación

Figura 1. Recolección de la planta



Ilustración 1: recolección de la planta para identificación.

Figura 2. Extracto etanólico *Ocimum micranthum* W.



Ilustración 2: obtención del extracto etanólico *O. micranthum* W.



Ilustración 3: solución madre

Figura 3. Preparación de la solución control – terbinafina.



Ilustración 4: elaboración de la solución control- terbinafina

Figura 4. Análisis fitoquímico

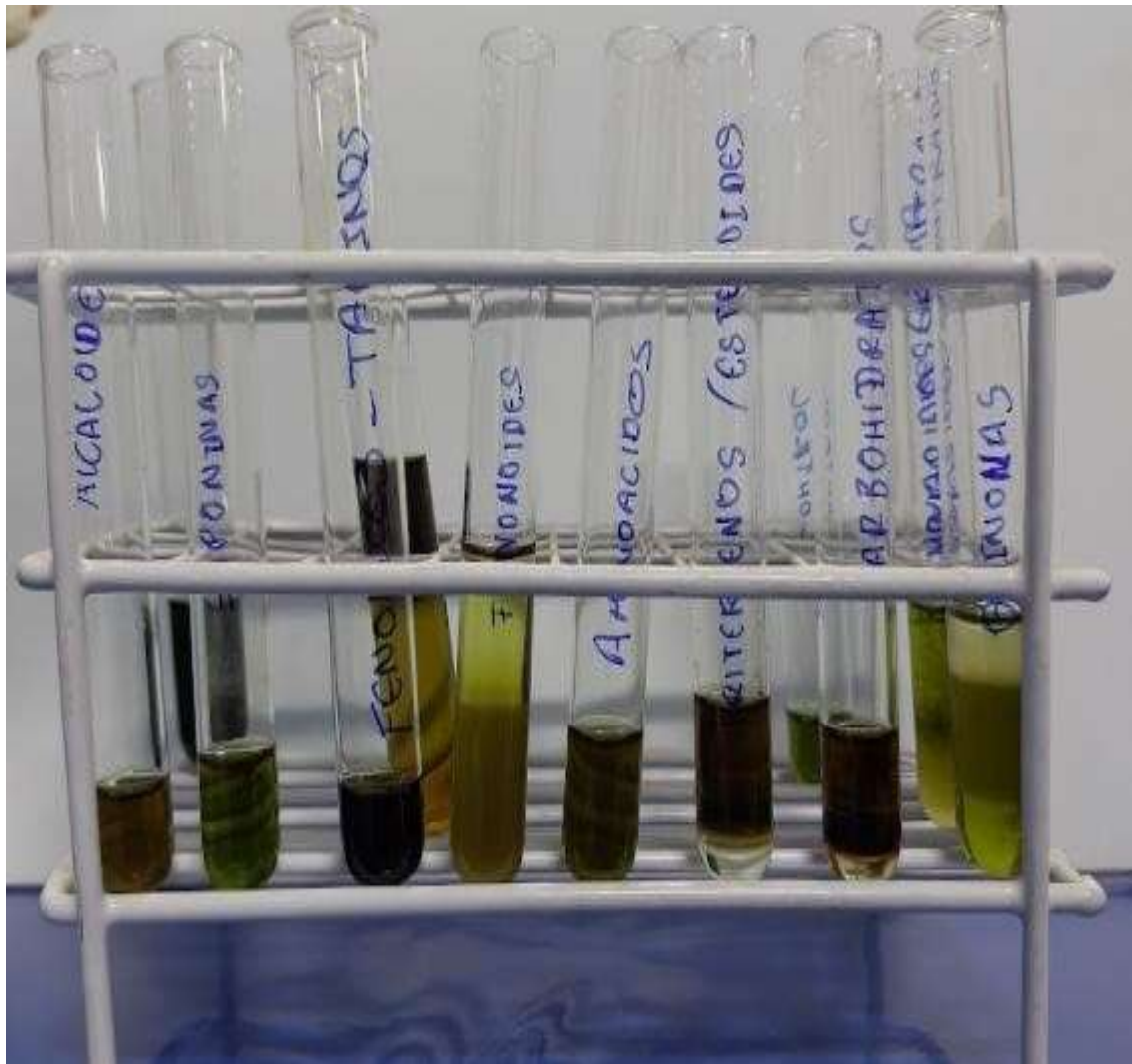


Ilustración 5: formación de coloración para identificar los metabolitos

Figura 5: Preparación del inoculo - Cultivo de las cepas



Ilustración 6: Cepas *Cándida albicans*



Ilustración 7: Preparación del inóculo en solución salina

Figura 6. Prueba de sensibilidad con los extractos en las placas



Ilustración 8: replicación en agar Sabouraud e incubación



Ilustración 9: las pinzas sujetan a los discos que serán embebidos en las soluciones del extracto.



Ilustración 10: soluciones de los extractos en concentraciones 50%,80%,100%.

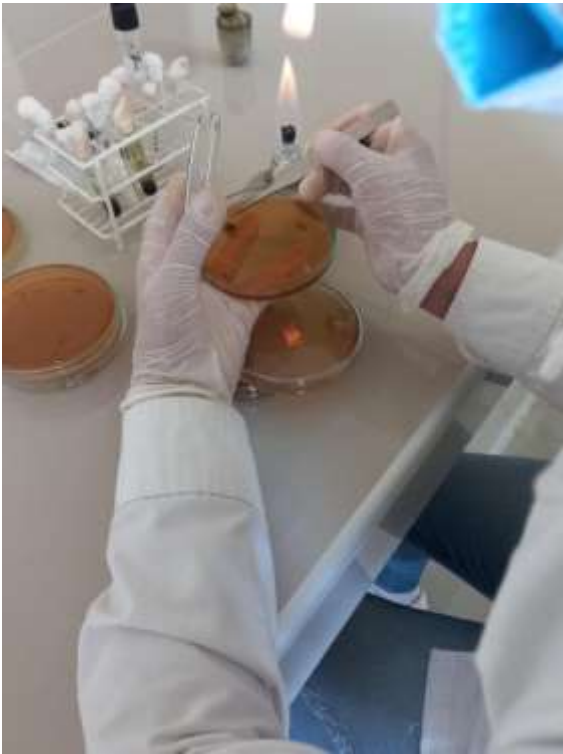


Ilustración 11: colocamos los discos con extractos en las placas.

Figuras 7: Resultados

