Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América
Facultad de Odontología
Escuela Profesional de Odontología

Actividad antifúngica in vitro de extracto etanólico de *Salvia rosmarinus* (Romero) en cepas de *Candida albicans*

TESIS

Para optar el Título Profesional de Cirujano Dentista

AUTOR

Marco Antonio PAUCAR VALENTIN

ASESOR

Elba Estefanía MARTÍNEZ CADILLO

Lima, Perú

2024



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Paucar M. Actividad antifúngica in vitro de extracto etanólico de *Salvia rosmarinus* (Romero) en cepas de *Candida albicans* [Tesis de pregrado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Odontología, Escuela Profesional de Odontología; 2024.

Metadatos complementarios

Datos de autor	
Nombres y apellidos	Marco Antonio Paucar Valentin
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	77505970
URL de ORCID	https://orcid.org/0009-0002-1439-7048
Datos de asesor	
Nombres y apellidos	Elba Estefanía Martínez Cadillo
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	08621492
URL de ORCID	https://orcid.org/0000-0001-9601-7509
Datos del jurado	
Presidente del jurado	
Nombres y apellidos	Elías Ernesto Aguirre Siancas
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	10179548
Miembro del jurado 1	
Nombres y apellidos	Elba Estefanía Martínez Cadillo
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	08621492
Miembro del jurado 2	
Nombres y apellidos	Marcos Antonio Herrera Cisneros
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	06179383

Datos de investigación	
Línea de investigación	No aplica
Grupo de investigación	No aplica
Agencia de financiamiento	Sin financiamiento.
Ubicación geográfica de la investigación	Universidad Nacional Mayor de San Marcos Edificio: Facultad de Odontología de la UNMSM País: Perú Departamento: Lima Provincia: Lima Distrito: Cercado de Lima Latitud: -12.054583 Longitud: -77.085246
Año o rango de años en que se realizó la investigación	Enero 2023- Julio 2024
URL de disciplinas OCDE	Odontología, Cirugía oral, Medicina oral https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#3.02.14

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
(Universidad del Perú, DECANA DE AMERICA)
FACULTAD DE ODONTOLOGIA
VICE DECANATO ACADÉMICO
UNIDAD DE ASESORÍA Y ORIENTACIÓN DEL ESTUDIANTE
(UNAYOE)
"Año del Bicentenario de la Consolidación de nuestra Independencia y de la Conmemoración de las Heroicas Batallas de Junín y Ayacucho"

A C T A DE SUSTENTACIÓN
PRESENCIAL N°013

Los Docentes que suscriben, reunidos el 08 de julio de 2024 en la ciudad de Lima, siendo las 11:00 horas, por encargo del Señor Decano de la Facultad, con el objeto de constituir el Jurado de Sustentación para optar el Título Profesional de Cirujano Dentista del Bachiller:

PAUCAR VALENTIN, MARCO ANTONIO

CERTIFICAN:

Que, luego de la Sustentación de la Tesis **«ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA IN VITRO DE EXTRACTO ETANÓLICO DE *Salvia rosmarinus* (Romero) EN CEPAS DE *Candida albicans*»** y habiendo absuelto las preguntas formuladas, demostró un grado de aprovechamiento:

SOBRESALIENTE
(escala)

siendo calificado con un promedio de: DIECIOCHO (en letras) 18 (en números)

En tal virtud, firmamos en la Ciudad Universitaria, a los ocho días del mes de julio del año dos mil veinticuatro.

PRESIDENTE DEL JURADO
Dr. Elías Ernesto Aguirre Siancas

MIEMBRO SECRETARIO
CD. Marcos Antonio Herrera Cisneros

MIEMBRO VOCAL (ASESOR)
Blga . Elba Martínez Cadillo

Escala de calificación: Grado de Aprovechamiento:
Sobresaliente (18-20), Bueno (15-17), Regular (12-14), Desaprobado (11 ó menos)
Criterios: Originalidad, Exposición, Dominio del Tema, Respuestas.

CERTIFICADO DE SIMILITUD

Yo, ***ELBA ESTEFANÍA MARTÍNEZ CADILLO*** en mi condición de asesor acreditado con la Resolución Decanal N° ***0190/FO-VDAC-UNAYOE/2022*** de la tesis, cuyo título es **"ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA INVITRO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Salvia rosmarinus* (Romero) EN CEPAS DE *Candida albicans*"** presentado por el bachiller MARCO ANTONIO PAUCAR VALENTIN para optar el título profesional de Cirujano dentista.

CERTIFICO que se ha cumplido con lo establecido en la Directiva de Originalidad y de Similitud de Trabajos Académicos, de Investigación y Producción Intelectual.

Según la revisión, análisis y evaluación mediante el software de similitud textual, el documento evaluado cuenta con el porcentaje de **5%** de similitud, nivel **PERMITIDO** para continuarcon los trámites correspondientes y para su **publicación en el repositorio institucional.**

Se emite el presente certificado en cumplimiento de lo establecido en las normas vigentes, como uno de los requisitos para la obtención del grado académico correspondiente.

Firma del Asesor: _____

DNI: 08621492

Nombres y apellidos del asesor: *ELBA ESTEFANÍA MARTÍNEZ CADILLO*



Huella digital

DEDICATORIA

En primer lugar, a Dios por haberme brindado la protección y las fuerzas necesarias para este largo camino de mi vida universitaria.

A mis padres, Antonio Paucar Llacza y Soledad Valentin Vilcapoma quienes estuvieron brindándome todo su apoyo en cada paso que daba; es por ellos y para ellos que no me rendiré.

A mis hermanos, Elizabeth, Jenny y Beckham Paucar Valentin, cuñados Victor Yupanqui y Aldo Diaz, sobrinos y sobrinas por brindarme cada palabra de motivación las cuales me sirvieron para seguir adelante.

A mi sobrino, Jorge Luis Perez Paucar Q.E.P.D quien me demostró en vida que con disciplina y amor a dios se pueden lograr grandes cosas.

AGRADECIMIENTO

Al Dr. Elías E. Aguirre Siancas, presidente de mi jurado de tesis, por su apoyo, tiempo y paciencia en todo el desarrollo de mi trabajo de investigación diciéndome las sugerencias respectivas para una mejor elaboración de mi trabajo.

A mi asesora de tesis, Blga. Elba E. Martínez Cadillo por sus recomendaciones en cada paso que daba en el desarrollo de mi tesis, por estar siempre predispuesta para que este trabajo salga con los resultados esperados, por sus ideas, por sus consejos para no rendirme, siempre le estaré agradecido doctora.

Al Dr. Marcos A. Herrera Cisneros, miembro de mi jurado de tesis, por su apoyo y estar siempre a disposición en brindarme sus sugerencias para el correcto desarrollo de mi trabajo de investigación.

Al Dr. Américo Castro Luna, docente de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos quien fue parte fundamental para el término de esta tesis, por su aporte en la elaboración del extracto etanólico de la *Salvia rosmarinus* (Romero), por su predisposición y consejos en cada etapa de mi trabajo de investigación.

Al Dr. Donal Ramos Perfecto, por apoyarme en la prestación de algunos insumos para la ejecución de mi trabajo de investigación.

Al personal de laboratorio de microbiología de la FO de la UNMSM, con mención especial a la técnica Violeta por estar siempre a disposición en todo el desarrollo de mi ejecución, por el buen ánimo que le puso y sus palabras de aliento en no rendirme.

A mis amigos que me dio la universidad, Sergio Orozco, Jesús Celis, Eduardo Barrios, Leandro Vera, Antonio Diaz y Christian Rojas por permitir que mi estadía dentro y fuera de la universidad sean de los mejores y ayudarme con sus consejos y buenos deseos para el término de mi tesis.

RESUMEN

Objetivo: Evaluar la actividad antifúngica del extracto etanólico de *Salvia rosmarinus* (Romero) (E.E. *Salvia rosmarinus*) sobre cepas de *Candida albicans*, un importante agente etiológico de infecciones fúngicas en el ámbito odontológico. **Metodología:** Se plantearon diferentes concentraciones del extracto de Romero (6.25%, 12.5%, 25%, 50% y 100%) para evaluar su efecto sobre el crecimiento de *C. albicans* in vitro. **Resultados**: Los resultados demostraron actividad antifúngica del E.E. *Salvia rosmarinus*. sobre *C. albicans* en todas las concentraciones evaluadas. La actividad antifúngica más alta se observó en concentraciones al 100%, seguida por las de 50%, 25%, 12.5%, 6.25%. Al comparar las diferentes concentraciones del extracto, destacó la eficacia de este en la inhibición del crecimiento de las cepas de *C. albicans*. **Conclusiones:** El E.E. *Salvia rosmarinus* demostró ser efectivo sobre cepas de *C. albicans* in vitro, mostrando una sensibilidad dosis-dependiente en las concentraciones evaluadas. Lo que sugiere un potencial terapéutico alternativo de la *Salvia rosmarinus* contra infecciones fúngicas pero menor que la Nistatina.

Palabras claves: Extracto etanólico, actividad antifúngica, halos inhibitorios, *Salvia rosmarinus*, *Candida albicans*, Nistatina

ABSTRACT

Objective: The antifungal activity of the ethanolic extract of *Salvia rosmarinus* (Rosemary) *(E.E. Salvia rosmarinus)* on strains of *C. albicans*, an important etiological agent of fungal infections in the dental field. **Methodology:** Different concentrations of the extract (6.25%, 12.5%, 25%, 50% and 100%) were used to evaluate its effect on the growth of *C. albicans* in vitro. **Results:** The results obtained revealed that the E.E. *Salvia rosmarinus* showed antifungal activity against *C. albicans* at all the concentrations evaluated. The concentration at 100% was shown to have the strongest antifungal action followed by the 50%, 25%, 12.5% y 6.25% concentrations. In addition, the different concentrations of the extract were compared, highlighting its efficacy in inhibiting the growth of *C. albicans* strains. **Conclusions:** 1) The E.E. *Salvia rosmarinus*. demonstrated significant antifungal activity against *C. albicans* strains in vitro, showing a dose-dependent sensitivity at the concentrations evaluated.2) It was noted that the greatest amount of the extract (100%) presented the highest antifungal activity, followed by concentrations of 50%, 25%, 12.5% y 6.25%, suggesting a therapeutic potential of *Salvia rosmarinus* in the treatment of fungal infections but less than nystatin.

Key words: Ethanolic extract, antifungal activity, inhibitory halos, *Candida albicans*, *Salvia rosmarinus*, Nistatine

ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN 11

II. PLANTEAMIENTO DE PROBLEMA 12

2.1 Área problema 12

2.2 Delimitación del problema 14

2.3 Formulación de problema 15

2.4 Objetivos 15

2.4.1 Objetivo general 15

2.4.2 Objetivos específicos 15

2.5 Justificación 15

2.6 Limitaciones 16

III. MARCO TEÓRICO 17

3.1 Antecedente 17

3.2 Bases teóricas 20

3.2.1 *Salvia rosmarinus* (Romero) 20

3.2.2 Candida albicans 31

3.3 Definición de término 38

3.4 Hipótesis 40

3.5 Operacionalización de las variables 40

2. IV. DISEÑO METODOLÓGICO 50

4.1 Tipo de investigación 51

4.2 Población 51

4.2.1 Población y muestra 51

4.2.2 Criterios 51

4.2.3 Unidad de análisis 51

4.3 Método 52

4.3.1 La obtención del extracto etanólico de *Salvia rosmarinus* (Romero) 52

4.3.2 La identificación taxonómica 53

4.3.3 Cepas de *Candida albicans* 53

4.3.4 Preparación del medio de cultivo 54

4.3.5 Determinación de la actividad antifúngico in vitro 54

4.4 Recolección de datos 56

4.5 Procesamiento de análisis de datos 56

V. RESULTADOS 57
VI. DISCUSIÓN 62
VII. CONCLUSIONES 66
VIII. RECOMENDACIONES 67
IX. BIBLIOGRAFÍA 68
X. ANEXO 74

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 01. La estructura química de los compuestos activos de la planta de *Salvia rosmarinus* incluyendo ácido rosmarínico, ácido carnósico, carnosol, epirosmanol, rosmaridifenol, carnosol……**32**

Figura 02. Estructura de algunos metabolitos secundarios del *Salvia rosmarinus*……**32**

Figura 03. Uso farmacológico y forma de utilización de la *Salvia rosmarinus*……**35**

Figura 04. Imágenes de microscopía óptica de *C. albicans* en las puntas de las flechas se observa las clamidosporas, en las flechas las hifas y en el asterisco una pseudohifas……**43**

Figura 05. Esquema representativo de una pared celular de *Candida Albicans……....***44**

Figura 06. Comparación de la media de los diámetros de los halos de inhibición de crecimiento de las distintas concentraciones de *Salvia rosmarinus*……**58**

Figura 07. Comparando las medias de los diámetros de los halos inhibitorios del E.E de *Salvia rosmarinus* (Romero) en sus distintas concentraciones, Nistatina y DMSO……**61**

Figura 08. Muestra 10 placas petri con la presencia de los halos de inhibición, sus diferentes concentraciones del Romero, control positivo y negativo……**77**

Figura 09. Cepa de *Candida albicans* ATCC 10231……..……**79**

Figura 10. Control positivo de Nistatina 100000 ul/l (a) y control negativo de Dimetilsulfóxido (b)……**79**

Figura 11. Procedimiento para la elaboración de las distintas concentraciones de los E.E de *Salvia rosmarinus* y su proceso de cultivo de la *Candida albicans* en Agar Sabouraud……..**80**

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 01. Clasificación taxonómica de la *Salvia rosmarinus*……..……..**29**

Tabla 02. Algunos metabolitos secundarios que están presentes en la *Salvia rosmarinus*……..**33**

Tabla 03. Consejos en el modo de empleo del E.E *Salvia rosmarinus*……..……..**37**

Tabla04. Clasificación taxonómica de *Candida albicans*……..…**42**

Tabla 05. Medidas de tendencia central para los halos inhibitorios (mm) del E.E *Salvia rosmarinus*……..**58**

Tabla 06. Sensibilidad antifúngica del E.E de *Salvia rosmarinus* sobre *Candida albicans* ……..**59**

Tabla 07. Comparación múltiple intragrupo de los halos inhibitorio de los E.E de *Salvia rosmarinus*, Nistatina y DMSO…….…..…..**60**

Tabla 08. Shapiro-Wilk para pruebas de Normalidad del Extracto etanólico de *Salvia rosmarinus*……..**81**

Tabla 09. Anova de medida repetida para muestras pareadas.....**82**

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO 01. Constancia de clasificación taxonómica de la *Salvia Rosmarinus*……..…**74**

ANEXO 02. Instrumento para recolección de datos…….……..…**75**

ANEXO 03. Ficha técnica de la cepa de *Candida albicans*…….……..…**76**

ANEXO 04. Fotografías……..……**77**

ANEXO 05. Shapiro-Wilk para prueba de Normalidad del Extracto etanólico de *Salvia rosmarinus*……..**81**

ANEXO 06. Anova de medida repetida para muestras pareadas……..……**82**

I. INTRODUCCIÓN

La resistencia antifúngica es un desafío creciente en el campo de la salud, especialmente en el ámbito odontológico, donde las infecciones por hongos, como *C. albicans*, representan un problema significativo. En este contexto, el uso de plantas medicinales con propiedades antifúngicas se ha convertido en un área de interés para la investigación científica.

La *Salvia rosmarinus,* conocida comúnmente como Romero, es una planta con reconocidas propiedades medicinales, incluyendo actividad antifúngica. En particular, se observó que el Romero tiene compuestos con potencial actividad antifúngica.

En este contexto, el objetivo de la investigación actual fue evaluar la actividad antifúngica in vitro del Romero sobre cepas de *C. albicans,* con la finalidad de contribuir al desarrollo de nuevas alternativas terapéuticas para el tratamiento de infecciones fúngicas en el ámbito odontológico.

A través de este estudio, se busca aportar evidencia científica que respalde el uso de la *Salvia rosmarinus* como una opción terapéutica efectiva contra las infecciones por *C. albicans* promoviendo así el uso de recursos naturales en el cuidado de la salud bucal.

II. PLANTEAMIENTO DE PROBLEMA

2.1 Área problema

La Organización Mundial de la Salud (OMS) es una organización que tiene como objetivo fomentar el uso responsable de las terapias derivadas de la medicina tradicional, investigar sus beneficios y monitorear su uso por parte de la población.; además declaran que las diferentes propiedades que presentan las plantas medicinales son por sus diversos metabolitos secundarios por la que está compuesta (1).

Las características biológicas de las plantas llevan mucho tiempo despertando el interés de los científicos porque desde la antigüedad se ha empleado la fitoterapia para tratar y prevenir enfermedades. Numerosos estudios han demostrado que las plantas tienen efectos farmacológicos y pueden utilizarse medicinalmente para tratar desde el cáncer hasta la inflamación o el dolor. En odontología, el uso de la fitoterapia ha aumentado, y cada vez se investiga más el uso de derivados de plantas para tratar la candidiasis oral (2).

El Perú cuenta con una historia y cultura viva de Medicina Tradicional, ya que se utilizan alrededor de 1408 especies vegetales para propósitos médicos entre comunidades nativas y urbanas. Para un mayor control de estas especies se creó la Fitoterapia, parte de la medicina que estudia su acción terapéutica y sus extractos de cada una de ellas (3).

Perú posee 84 de las 107 ecorregiones del mundo. Se cree que sólo se ha examinado el 60% de la flora peruana, lo que ha permitido descubrir 1400 especies con uso medicinal (4).

A lo largo de la historia, las personas han recurrido directa y empíricamente en la naturaleza para obtener los recursos necesarios para satisfacer sus diversas necesidades como medicina, madera, tinte, forraje y otros. Las comunidades amazónicas de los Andes son conocidas por su dedicación a mantener el conocimiento ancestral de las plantas y animales, que con el tiempo se va perdiendo. Conscientes de

esta verdad, varios investigadores de países desarrollados, especialmente en campos como Etnobotánica, Zoología, Medicina y Antropología, ingresan a nuestro territorio y exploran dentro de nuestras comunidades para buscar el conocimiento que permita la validez de estas plantas medicinales (5).

Las plantas medicinales por la presencia de sus moléculas volátiles que muestran acciones biológicas como antioxidantes, antimicrobianas, antisépticas, antiinflamatorias, anticancerígenas y analgésicas, los extractos de plantas se han utilizado como fuentes de cuidados preventivos y tratamientos medicinales desde la antigüedad (6).

La planta *Salvia rosmarinus* conocida también como Romero, se encuentra en todo el mundo, aunque es originaria de la región mediterránea. Se ha utilizado en la industria cosmética, culinaria y en medicina alternativa, principalmente por su esencia aromática y sus efectos farmacéuticos beneficiosos contra ciertos microorganismos (7). Su mecanismo de acción en la Candidiasis Oral consiste en desestabilizar la pared celular lo que resulta en células disfuncionales en el biofilm y la inhibición de la formación de tubos germinativos de *C. albicans*, lo que dificulta su propagación a través de los tejidos orgánicos.

C. albicans es el hongo comensal más común presente en la cavidad bucal de forma patógena al 45% en neonato, 65% en niños sanos, 30 al 45% en adultos sanos, 50 al 65% en personas con prótesis removible (8). Esta levadura también es un hongo oportunista transformándose en una hifa patógena cuando aparece factores de riesgo como pacientes adultos mayores, el uso de antibióticos de amplio espectro, los corticosteroides, la xerostomía, la diabetes mellitus, las insuficiencias dietéticas y la presencia de prótesis removibles (9), xerostomía, consumo de tabaco y mayor ingesta de carbohidratos.

La medicina alternativa o complementaria (MCA) se define por la Organización Mundial de la Salud (OMS) como un conjunto de técnicas médicas que no forman parte de la tradición nacional de un país (medicina tradicional) y no están plenamente incluidas y articuladas en el sistema sanitario. Estos tratamientos suelen ser holísticos y centrados

en la persona, lo que significa que los ámbitos biopsicosocial y espiritual de los usuarios se integran en la atención sanitaria (10).

Es importante que el conocimiento de la medicina alternativa trascienda culturalmente en cada persona y no quede suscrito solo a él y así mismo pueda compartirlo y así preservarse por mucho tiempo esta indispensable área que por largos años ha sido beneficioso para salud general. Muchos países en vía de desarrollo tienen una tendencia a usar la medicina tradicional como un factor paliativo a sus dolencias ya que a menudo es el único tratamiento accesible y económicamente factible.

2.2 Delimitación del problema

Los últimos años, la Candidiasis oral apareció con mayor frecuencia por el uso indiscriminado de antifúngicos y antibióticos con amplio espectro, mayor cantidad de pacientes con tratamiento farmacológico, por trasplante de órganos, pacientes asmáticos con largos periodos de tratamiento con corticosteroides, portadores de aparatología removible, pacientes diagnosticados con VIH, pacientes consumidores de tabaco, pacientes con alteraciones endocrinas. Por ello, es importante seguir buscando nuevas sustancias antimicrobianas y antifúngicas debido a la resistencia de estos microorganismos y a la toxicidad del tratamiento en periodos largos. Inclusive la Candidiasis oral se considera como una señal temprana de una infección por el VIH (11).

La *C. albicans* es responsable del 60-80% de todas las Candidiasis orales y se encuentra con frecuencia en zonas mucosas por ejemplo en el tracto gastrointestinal, cavidad oral, vías genitourinarias inclusive en la mucosa perianal. Las infecciones por candidiasis van desde infecciones superficiales como la piel y mucosas hasta infecciones sistémicas graves que ponen a los pacientes en peligro vital (9).

En todo el mundo existen 250.000 especies de flora, de las cuales el 10% se encuentran en Perú y de esto, solo el 60% de la flora peruana ha sido investigada (4). Aún, no se aprovecha o se desconoce los beneficios de muchas especies de plantas lo que hace

necesario seguir investigando; además, el crear jardines botánicos ayuda a la preservación y no extinción de estas plantas medicinales.

En consecuencia, la finalidad del estudio es evaluar la eficacia antifúngica de la *Salvia rosmarinus* sobre *C. albicans.*

2.3 Formulación de problema

¿Cuál es la actividad antifúngica del extracto etanólico de *Salvia rosmarinus* sobre el crecimiento de cepas en *Candida albicans*?

2.4 Objetivos

2.4.1 Objetivo general

Determinar la actividad antifúngica del extracto etanólico de *Salvia rosmarinus* sobre el crecimiento de cepas en *Candida albicans.*

2.4.2 Objetivos específicos

1. Obtener el extracto etanólico de la *Salvia rosmarinu*s a diferentes concentraciones.
2. Evaluar el crecimiento de cepas de *C. albicans* contra el extracto etanólico *Salvia rosmarinus.*

2.5 Justificación

JUSTIFICACIÓN TEÓRICA: La *Salvia rosmarinus* ha demostrado diferentes efectos farmacológicos alentadores contra bacterias gram negativas y grampositivas en numerosos estudios nacionales e internacionales. En vista de ello, el objetivo de la investigación actual es determinar la actividad antifúngica de *Salvia rosmarinus* contra cepas de *C. albicans* y evaluar la dosis óptima para el tratamiento del microorganismo objetivo.

JUSTIFICACIÓN SOCIAL: El uso de productos naturales para diversas dolencias tiene

muchos usos en la medicina complementaria, lo que permite satisfacer las necesidades de la comunidad en materia de salud. Por eso queremos animar a la gente a utilizar el Romero para tratar los hongos que forman parte del microbiota de la cavidad oral cuando se convierten en patógenos. Garantizar la seguridad y calidad de las plantas medicinales.

JUSTIFICACIÓN METODOLÓGICA: El esfuerzo actual se centra en el avance de la investigación en el descubrimiento de nuevas sustancias de origen vegetal con propiedades farmacológicamente activas. La contribución del estudio permitirá que las investigaciones futuras avancen en una dirección que posibilitará la obtención de hallazgos complementarios mediante diversas técnicas, que podrán aplicarse en los campos de la microbiología y la medicina tradicional que buscan explorar nuevas vías de tratamientos odontológicos con el objetivo de mejorar las propiedades de productos ya estandarizados.

2.6 Limitaciones

- No contar con un número adecuado de investigaciones científicas actualizadas del efecto antifúngico del E.E *Salvia rosmarinus* sobre cepas de *Candida albicans* en la cavidad oral.
- La falta de un equipo para el desarrollo de una prueba cuantitativa de polifenoles.
- Por tratarse de un estudio in vitro, se dificultó encontrar las proporciones adecuadas de extracto seco y del solvente DMSO que dieran como resultado el efecto antifúngico deseado.

III. MARCO TEÓRICO

3.1 Antecedente

Da Silva Bomfim y Col. (Perú,2020) evaluaron las propiedades anti fúngicas y antiaflatoxigénico del E.E. *Salvia rosmarinus* frente a *Aspergillus flavus.* El REO fue obtenido por hidrodestilación y sus componentes mayoritarios fueron 1,8-cineol (eucaliptol 52,2 %), alcanfor (15,2 %) y α-pineno (12,4 %) por GC/MS y NMR. Los resultados obtenidos demostraron una reducción en el tamaño de espesor de conidióforos e hifas en *Aspergillus flavus* por tratamiento con REO (250 µg/mililitros). La producción de ergosterol y la biomasa de micelio disminuyeron a medida que el REO aumentaba en concentración. La producción de aflatoxinas B1 y B2 fue inhibida después del tratamiento con 250 µg/ml de REO, lo que indica que el efecto antiaflatoxigénico de REO es independiente de su efecto antifúngico y probablemente debido a su acción directa sobre la biosíntesis de toxinas. Los datos demostraron que REO se puede utilizar como una alternativa a los fungicidas sintéticos (13).

Oliveira J. et al (Perú,2019) investigaron la capacidad del E.E. *Salvia rosmarinus.* para combatir *Streptococcus mutans* y *C. albicans* en biopelículas monomicrobianas formadas durante 48 horas y luego expuestas al extracto de Romero por 5 minutos. Luego se utilizó el método de Lowry para calcular la cantidad total de proteínas. Se observó en los resultados una disminución significativa de la proteína total de las biopelículas después que se expuso contra el extracto de dicha planta. *C. albicans* disminuyó en 39 % o 11 % y *Streptococcus mutans* en 32 % o 11 %. Se descubrió que el extracto de la planta reduce la cantidad de proteínas del biofilm de ambos microorganismos (14).

Solano L. (Peru,2018) evaluó el efecto antifúngico del aceite esencial de la *Salvia rosmarinus* sobre la sustancia activa del fluconazol de 25 ug contra *C. albicans*; del

aceite se obtuvo concentraciones al 25%, 50%, 75% y 100%. Resultados: el halo inhibitorio del aceite al 75 fue 12,7 mm % y al 100 % fue 14,7 mm, mientras que su halo inhibitorio del fluconazol fue 25,8 mm. Se descubrió que el aceite esencial tuvo un efecto antifúngico al 75 % y al 100 % sobre *C. albicans*, pero el efecto sigue siendo menor que el fluconazol (15).

Dentone y col (Perú,2017) buscaron hallar su efecto antifúngico del aceite de Romero contra *Microsporum c*. Se utilizaron muestras clínicas para aislar una cepa de *M. canis*. Con la técnica de arrastre de vapor, se produjo aceite de Romero 100% puro. Las cepas de *Microsporum c.* se expuso a concentraciones, utilizando el método de difusión en pozo, de 250, 500, 1.000, 2.000, 5.000, 10.000, 50.000 y 100.000 ppm estas obtenidas a partir del aceite esencial de dicha planta. Los resultados mostraron que *M. canis* era suficientemente sensible a partir de 50.000 ppm (16).

Achimón y col. (Perú,2021) analizaron los compuestos químicos de los aceites esenciales de la *Pimenta dioica, Curcuma longa*, *Salvia r.* y *Syzygium aromaticum* además sus efectos antifúngicos y sus efectos anti conidiógena frente a *Fusarium verticillioides*. El compuesto químico fue determinado por GC/MS y su actividad por método de dilución en agar usando concentraciones en 1000 p.p.m, 500 p.p.m, 250 p.p.m y 125 p.p.m. Se obtuvieron Eugenol (16,70% en *P. dioica* y 88.70% en *S. aromaticum*), α-turmerona (44,70%), β-turmerona (20,67%), metil eugenol (53%,09% en *P. dioica*), y Ar-turmerone (17,27%) en *Curcuma. Longa, estos* fueron los principales compuestos. Además, el *S. aromaticum* tuvo más efecto antifúngico, seguido por la *P. dioica* y con menor medida *C. longa*. El Romero inhibió muy poco el crecimiento en hongos sin embargo fue el único aceite que redujo el desarrollo de las conidias, además como principales compuestos tiene al 1,8-cineol (53,48%), alcanfor (9,57%), α-pineno (15,65%). Identificaron diferentes compuestos principales responsables en los efectos antifúngicos y anticon idiogénicos (17).

Borges, R. S. y col (Perú,2019) buscaron describir el fito-perfil químico, su mecanismo de acción, usos etno farmacológicos enfatizando en su acción antiinflamatoria. Los resultados fueron: 150 compuestos químicos diferentes. El alcanfor, el 1,8-cineol y el alfa-pineno fueron las moléculas más frecuentes. La eficacia antiinflamatoria es debido a la transcripción del NF-kB y del ácido araquidónico. Presenta actividad antioxidante y miorrelajante. Se concluyó que la evidencia actual indica actividad antiinflamatoria, apoyando su etnofarmacología, usos médicos en enfermedades relacionadas con la inflamación (18).

Gonçalves y col (Perú,2022) evaluaron el efecto antiinflamatorio potencial de *Salvia rosmarinus* en modelos preclínicos in vivo de inflamación. Los modelos animales predominantes fueron edema de pata, agudo daño hepático y asma. Las rutas más comunes de la administración informada fueron por sonda, intraperitoneal y oral, en una dosis dependiente de la vía. El tratamiento se realizó diariamente, o en dosis única, en promedio durante 21 días. Los mejores resultados fueron con la dosis de 60 mg/Kg vía IP de ácido carnósico y con 400 mg/Kg vía sonda de *Salvia rosmarinus*, y una dosis de 10 mg/Kg vía IP de ácido rosmarínico. El Romero mostró propiedades antiinflamatorias actividad antes y después de la inducción de los tratamientos (19).

De la Cruz Díaz, Luz Mari (Perú,2023) determinó la actividad antifúngica del E.E. *Salvia rosmarinus* contra *C. albicans,* sus controles positivos (Nistatina al 100mg/ml) y negativos. Se pulverizaron las hojas, luego a maceración y para la concentración del extracto se diluyó con agua destilada. La actividad antifúngica fue en pozo. Los hallazgos mostraron halos de inhibición de 18.40+0.32mm al 100%,17.33+0.32mm al 75% y 14.14+0.46mm al 50% el grupo control con halos de 26.44+0.33mm (positivo) y 6.06+0.43mm (negativo); además, *C. albicans* fue más sensible contra la Nistatina, pero menor a los extractos del *Romero.* Se concluyó que el extracto de la planta presentó

efecto antifúngico contra *C. albicans*, pero menor en comparación con Nistatina (20).

De Macedo y Col (Perú,2020) discutieron sobre las aplicaciones tópicas del *Rosmarinus officinalis* que encontraron en la literatura para evitar su absorción sistémica y efectos secundarios adversos. El Romero tiene propiedades terapéuticas, usado medicina popular, en cosmética e industria farmacéutica principalmente por ser antioxidante y antiinflamatoria estas propiedades es por los compuestos de ácidos carnosol/carnósico y ursólico. Se halló otros usos por ejemplo cicatrización de heridas, tratamiento de cáncer de piel, micosis, celulitis, alopecia, envejecimiento y daño ultravioleta (21).

Diaz Vilcachagua, Antonio (Perú,2023) evaluó y comparó los efectos antifúngicos de los E.E del *Erythroxylum coca var. coca* y *Eucalyptus globulus* junto con la nistatina contra *C. albicans* Se usaron 25 placas Petri las cuales fueron sembradas con *C. albicans.* Su efecto antifúngico se halló con el método en pozo, se usó concentraciones al 100%, 50%, 25%, 12.5%, 6.25% en cada uno de los extractos, Además, se estudió la comparación entre *E. globulus y E. coca var. coca*. Se usaron como control negativo (DMSO) y positivo (Nistatina) (22).

3.2 Bases teóricas

3.2.1 *Salvia rosmarinus* (Romero)

3.2.1.1 Historia

Se cuenta que los faraones egipcios colocaron un ramillete de Romero en su tumba para que su viaje al país de los muertos fuera perfumado. Tanto los griegos como los romanos lo veían como un símbolo de la renovación. Los árabes lo consideraban uno de sus jardines y creían que era capaz de combatir las plagas. Durante el periodo del Renacimiento, se utilizó para elaborar el famoso agua de la reina de Hungría, además

de quemarse en los hospitales franceses para evitar epidemias (23). *La Salvia officinalis*, también conocida como *Salvia rosmarinus* (nombre actualmente aceptado) y *Rosmarinus angustifolius* es una de las plantas más importantes de la familia Lamiácea. Su nombre proviene de las palabras latinas “ros” y “marinus”, que significan “rocio del mar” o “rocio marino” (6). Dioscórides menciona en los capítulos 81, 82 y 83 la libanotis coronaria o Romero como una hierba de propiedades medicinales. Además, la reina de Hungría Isabel lo empleó para tratar el reumatismo que lo aquejaba en el siglo XVI, lo que le valió el sobrenombre de "agua de la reina de Hungría" y la convirtió en una de las curas más conocidas durante la corte de Luis XIV. Además, los boticarios utilizaban esta planta en diversos brebajes, pero las farmacopeas actuales solamente recogen su aceite esencial (24).

3.2.1.2 Clasificación taxonómica

Tabla 01. Clasificación taxonómica de la *Salvia rosmarinus* (anexo 01)

REINO	**Plantae**
DIVISION	Magnoliophyta
CLASE	Magnoliosida
SUBCLASE	Asteridae
ORDEN	Lamiales
FAMILIA	Lamiaceae
SUBFAMILIA	Nepetoideae
GENERO	*Salvia*
ESPECIE	*Salvia rosmarinus*
NOMBRE VULGAR	Romero

3.2.1.3 Descripción botánica

Este subarbusto aromático forma parte de la familia de las Labiadas (Lamiaceae). Las características de esta planta perenne de 50 a 150 cm de altura, tiene muchas ramas y es frondosa. En estas hojas fragantes de color verde y, ocasionalmente, en los fluidos florales, se concentran los principios activos. Las primeras son oblicuas, duras, flexibles y linealmente estrechas. Pueden medir hasta 4 mm de ancho y 3 cm de largo en promedio, y tienen los bordes continuos y enrollados hacia abajo, lo que les da un aspecto casi cilíndrico (6).

Las hojas jóvenes tienen pelos de color verde intenso en la parte superior. El nervio medio, que está hendido, causa la rugosidad de esta cara. Una gruesa capa de tomento blanco cubre el fondo, este mismo nervio se encuentra muy visible. Pasa casi todo el año en floración, lo que se traduce en la producción de flores labiadas, que se disponen en las terminaciones axiales a la vez en tetraquenio promedio (23). La corola tiene en su interior puntos violáceos y es de color azul, rosa o blanco. Al interior tiene unido dos estambres encorvados. Las flores tienen dos labios pronunciados, en la parte superior dos lóbulos y el inferior con tres lóbulos con un cóncavo en el intermedio. El olor de la planta es fuerte y aromático, como si fuese alcanforado. Además, tiene un sabor aromático, pero áspero y algo picante (24).

3.2.1.4 Distribución geográfica

El Romero se cultiva mejor en climas cálidos y moderadamente secos y requiere al menos 6 a 8 horas de exposición al sol al día. La planta tiene su origen de las regiones mediterráneas y península ibérica además España, Marruecos y Túnez son en la actualidad sus principales productores (26), donde las temperaturas típicas oscilan entre 20 y 30 grados Celsius (68 y 86 grados Fahrenheit) y son comunes durante la primavera y comienzo de verano. Después de la cosecha, las temperaturas del suelo superiores a

65°F (18°C) promueven el crecimiento y la regeneración. La planta, sin embargo, es resistente y puede tolerar temperaturas muy bajas. Es cultivado en varios países de América del Sur y en Perú se siembra en la costa, sierra y selva (24). Este género de rosmarinus presenta distintas especies, por ejemplo, *R. officinalis, R. tomentosus y R. eriocalyx* entre algunas variedades más, pero de estos el género *Salvia rosmarinus* es el que está más distribuida ampliamente y presenta una capacidad adaptativa a diferentes condiciones ambientales (26)

3.2.1.5 La composición química

El tipo de suelo, el clima y la altura sobre el nivel del mar influyen en la cantidad y los tipos de moléculas bioactivas presentes en las plantas, según varios estudios.

Para Romero se han documentado una variedad de sustancias químicas o bioactivas, que varios autores han clasificado en flavonoide, derivados hidroxicinámico, aceite esencial (α-pineno y β pineno) y terpenoide (35). Derivado hidroxicinámico (ácido cafeico y ácido rosmarínico) y los Terpenoide (ácido ursólico, rosmari quinona, ácido carnósico, ácido oleanólico y picrosalvina) son los dos principios activos principales del Romero en especial el ácido carnósico, ácido carnosol y ácido rosmarínico por su gran propiedad antioxidante usada para la conservación de alimentos y para el tratamiento de diabetes y cáncer convirtiéndose en una planta de mucha importancia para la industria médica y de alimentos (6). Uno de los compuestos fenólicos más comunes es el ácido rosmarínico encontrado en las plantas Lamiaceae, y sus propiedades y actividad biológica (antinflamatorio, anticancerígena, antibacteriana, antioxidante entre otros) dependen especialmente de su presencia. Estos extractos de la *Salvia rosmarinus* (Romero) presentan aproximadamente 24% de moléculas volátiles (36).

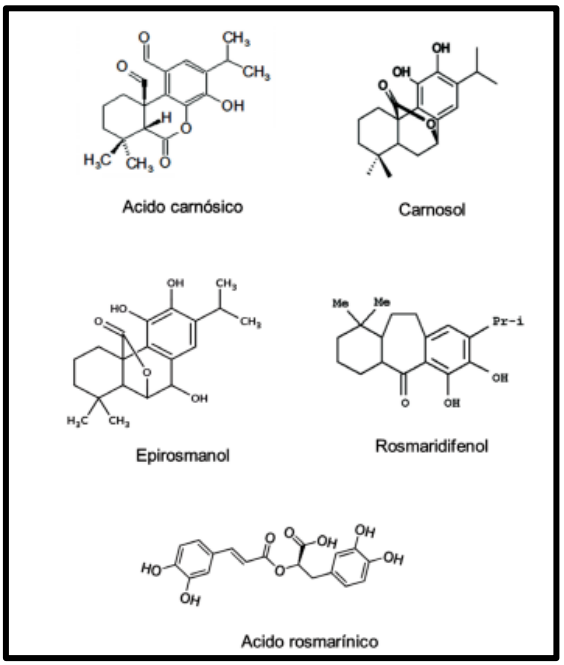


Figura 01. Estructura química de los compuestos activos de la *Salvia rosmarinus* incluyendo ácido rosmarínico, ácido carnósico, carnosol, epirosmanol, rosmari difenol, carnosol (35).

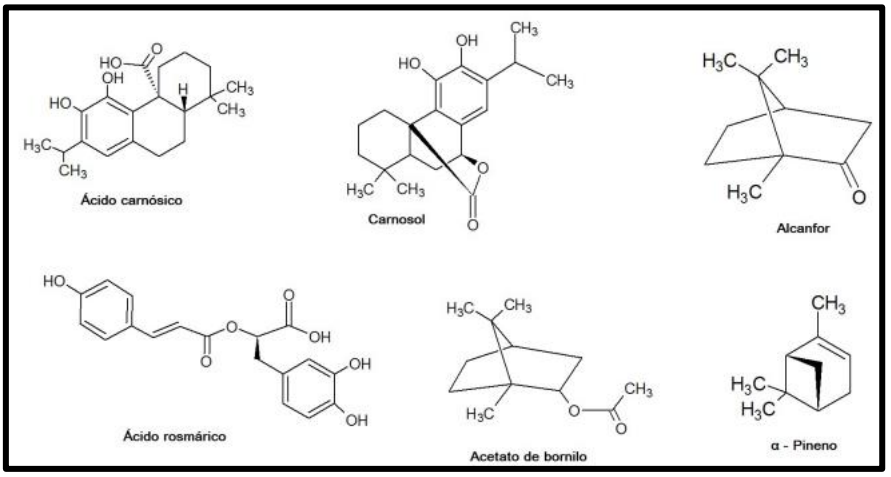


Figura 02. Estructura de algunos metabolitos secundarios de la *Salvia rosmarinus* (6).

Tabla 02. Algunos metabolitos secundarios que están presentes en la *Salvia rosmarinus* (6).

Metabolitos	Actividad biológica	Usos/aplicaciones
Salvigenina.	Antinociceptiva, ansiolítica y antidepresiva.	Como tónico en el tratamiento de la depresión y como analgésico para aliviar el dolor de cabeza, garganta y estómago.
Ácido oleanólico	Antiviral, antitumoral, antioxidante y antiproliferativa	Conservador de alimentos preparados y suplemento nutricional.
Limoneno.	Anticancerígena y hepatoprotectora	Como tónico coadyuvante en tratamientos del cáncer.
Terpinoleno	Antifúngica y antibacteriana.	Aditivo aromático en jabones y como tratamiento en el control de la caspa.
α-terpineno.	Antioxidante y antibacteriana.	Control de la oxidación en alimentos y conservador de alimentos preparados.
Luteolina.	Antiinflamatoria, antimicrobiana y antiproliferativa	Conservador de alimentos preparados.
Timol.	Insecticida	Fumigante natural en el control de plagas
Sabineno.	Antifúngica e insecticida.	Fumigante natural en el control de plagas.
α-felandreno	Antifúngica e insecticida.	Fumigante natural en el control de plagas.
Eugenol	Acaricida, antifúngica, antiproliferativa, antiinflamatoria y antioxidante.	Conservador de alimentos preparados en el tratamiento y control de la caspa
Ácido rosmárico	Antioxidante, antimicrobiana, hepatoprotectora, hipoglucémica, hipolipemiante, anticáncer, neuroprotectora, antiproliferativa y antiviral.	Control de la oxidación en los alimentos y conservador de alimentos preparados.

3.2.1.6 Actividad farmacológica

La *Salvia rosmarinus* contiene metabolitos como el carnosol y carnósico, rosmarínico, ursólico, oleanólico y ácido romérico entre otros. Estos compuestos han sido aplicados tópicamente y estudiados por sus múltiples propiedades terapéuticas por ejemplo por su potencial de cicatrización de heridas, efectos contra el cáncer de piel, efectos anti nociceptivos, efectos antifúngicos, actividad protectora UV, propiedades antiespasmódicas, carminativas, colagogas, emenagogo, anticoagulante, dispepsia entre otros (35). Los ácidos triterpénicos ursólico, oleanólico y romerico exhiben la actividad antiinflamatoria más fuerte de todos los metabolitos secundarios. Además de los extractos es posible utilizar aceite esencial de romero para aplicaciones tópicas (21).

Las alergias, pérdida de apetito, problemas gastrointestinales, cólicos biliares y renales, asmas, epilepsia, dolor de cabeza, las alteraciones circulatorias, los dolores musculares, articulares y las enfermedades inflamaciones se tratan con el Romero en medicina complementaria. Es antiespasmódico, antidepresivo, diurético, antirreumático, ansiolítico, estimula la fertilidad humana además de la memoria, diabetes mellitus (regula los niveles en glucosa), estimulante de la circulación sanguínea y de la cognición, tratamiento de dismenorrea, expectorante, trastornos respiratorios, dolor del estómago y de garganta, en trastornos de piel, tratamientos de lesiones orales, alivio de enfermedades cardiovasculares (24).

Efecto	Forma de utilización	Referencias
Actividad antibacteriana	Aceite esencial	Miresmailli 2006, Oluwatuyi *et al.* 2006, Rozman & Jerzek 2009
	Extractos etanólicos y acuosos	Barni *et al.* 2009
Actividad antiviral	Extactos hidroetanólicos	Nolkemper *et al.* 2006, 2008
Actividad antiparasitaria	Aceite esencial	Abe *et al.* 2002
Actividad antioxidante	Extracto acuoso	Genena *et al.* 2008
Actividad en el sistema nervioso central		
Estimulador	Aceite esencial	Tsuji *et al.* 2008, Miranda & Huajuca 2004
	Extracto acuoso	Burnett *et al.* 2004, Martínez *et al.* 2004
Mejorador de memoria	Extracto acuoso	Peng *et al.* 2007
Liberación de dopamina	Extracto de hojas	Sozio *et al.* 2008
Captación de monoaminas, citoprotectores a nivel de la membrana (eritrocitos)	Aceite esencial	Gholamreza & Mohammad 2005
Activación neuronal	Extracto acuoso	Rau *et al.* 2006
Inhibición de neurotransmisores	Extactos hidroetanólicos	Waggas & Balawi 2008
	Aceite esencial	Apostolidis *et al.* 2006
Acción antiinflamatoria	Aceite esencial	Asada 1999
Acción diurética	Extracto acuoso	Martínez *et al.* 2004
	Extactos hidroetanólicos	Haloui & Lovedec 2000
Propiedades a nivel celular		
Homeostásis celular	Extactos hidroetanólicos	Bakirel *et al.* 2008
Regulación de ácidos grasos	Extracto acuoso	Bustanji & Issa 2010
Crecimiento celular	Aceite esencial	Cantrell *et al.* 2005
Aumenta la oxidación microsomal en hígado	Extracto acuoso	Zhu *et al.* 1998
Cólicos menstruales	Aceite esencial	Miresmailli 2006
Anticonceptivo	Extracto de hojas	González-Trujano *et al.* 2006
Prevención cardiovascular	Aceite esencial	Islamcevic 2007
Efecto dermoprotector	Hojas de romero	Fuchs *et al.* 2005
Acción en el sistema gastrointestinal		
Reducción de lesión ulcerosa	Extactos hidroetanólicos	Correa *et al.* 2000

Figura 03. Uso farmacológico y forma de utilización de la *Salvia rosmarinus* (35).

3.2.1.7 Efecto secundario y contraindicación

Su principio base del Romero tiene muy baja toxicidad, pero algunas veces puede tener reacciones alérgicas, como dermatitis por contacto. Preparado en una infusión la probabilidad de manifestarse un cuadro de intoxicación por Romero es muy baja pero una sobredosis de esto podría causar espasmos abdominales, vómitos, una gastroenteritis, una hemorragia uterina e irritación renal. En su presentación tópica es

rubefaciente evitar colocarlo sobre mucosas y piel enrojecida e irritada y en pacientes hipersensibles a sus principios activos (26). Con respecto al aceite esencial, en cantidades aumentadas puede causar toxicidad al sistema nervioso central y/o convulsiones es por ello que se debe consumir en las dosis recomendadas y tener un mayor cuidado si usamos en los niños. No se usa dosis grandes para personas que sufren de epilepsia tampoco se indica en pacientes que padezcan cálculos biliares porque habrá aumento en el drenaje biliar y causando la obstrucción en los conductos biliares, tampoco se recomienda ser usado en gestantes (induce al aborto), en la lactancia (por tener compuestos estrogénicos), en colitis ulcerosa, en la enfermedad de Crohn entre otros severos problemas gastrointestinales (23,24,26).

3.2.1.8 Modo de empleo y aplicaciones

El Romero es una planta muy usada para tratar afecciones tanto en la medicina como en odontología, en los alimentos caseros, en el área de la agricultura, en el área de la cosmética, entre otros.

Tabla 03. Consejos en el modo de empleo de la *Salvia rosmarinus* **(23).**

Dosis diarias recomendada por vía interna
• En infusión: En 150 ml de agua hirviendo se pone 2-4 gr de hojas de romero y se deja de 10 a 15 minutos y finalmente se filtra. Esto se puede tomar 3 veces al día después de cada comida.
• En extracto fluido: 30 gotas por 3 veces al día.
• En aceite esencial: 3-4 gotas por 3 veces al día.
• Extracto seco nebulizado: 0,3 a 2 gr al día.
Vía externa
• Baño: Es una de las más eficaces, en 1 litro de agua con 50 gramos se pone a hervir y se deja entre 15 – 30 minutos y se filtra. No se recomienda bañarse de noche porque podría dificultar su sueño. Además, no usar cuando haya herida abiertas o irritada.
• La decocción: se pone a hervir en 1 litro de agua con 30-40 gramos durante 10 minutos y se filtra. Se puede colocar en compresas o fomentos en heridas, en áreas adoloridas por reumatismo, así como fricciones sobre el cuero cabelludo.
• Alcohol de Romero: se disuelve la esencia disuelta al 5% en alcohol. Se aplica con fricciones.

3.2.1.9 Mecanismo de acción

Aunque los polifenoles protegen contra agentes patógenos, también pueden retrasar el crecimiento al alterar las condiciones del medio y penetrar en la membrana celular de los microorganismos, causando la lisis. Algunos flavonoides están involucrados en la inhibición debido a su asociación con la inhibición de la síntesis de ADN y ARN y otras macromoléculas (26). Además, algunas literaturas mencionan que actúa a nivel del ergosterol, componente presente en la membrana celular de los hongos (38).

La literatura menciona que su efecto antifúngico de la *Salvia rosmarinus* es dada por algunos metabolitos como por ejemplo el Sabineno, canfeno, alfa-cariofileno, beta-cariofileno, acetato de bornilo y alfa-felandreno los cuales actúan sobre la pared celular de los hongos atacando sus vitaminas que es el Ergosterol o Esterol (6).

3.2.1.10 Uso del Romero en odontología y medicina

Las heridas quirúrgicas que comúnmente afectan a la mucosa de la cavidad oral provienen en su mayoría de procedimientos quirúrgicos como los injertos palatales autólogos, las cirugías periodontales y maxilofaciales y/o la colocación de implantes. El tiempo de cicatrización de tejidos blandos depende de varios factores, como la medida y ubicación de la herida, la calidad del sistema inmunológico y la higiene oral. Por lo tanto, el uso de productos exógenos basados en la Romero con efectos antimicrobianos, antiinflamatorios y estimulantes puede influenciar en el proceso de cicatrización de heridas de la mucosa oral, lo que puede ser beneficioso para prevenir infecciones (25).

En odontología, favorece su liberación de prostaglandina E2 inhibiendo con mejor eficacia la secreción ácida en pacientes con riesgo de gastrolesividad y además inhibe la liberación de leucotrieno B4 (leucocitos polimorfonucleares) regulando así su desarrollo inflamatorio a la vez reduciendo el sistema del complemento. El Romero ha sido muy estudiada en Brasil ya que se utiliza en diferentes presentaciones farmacéuticas, como colutorios, en los enjuagues bucales, en soluciones tópicas,

dentífricos (24,26). Además, como uso tópico en pacientes con enfermedades periodontales disminuye el índice gingival (27).

En odontología también se usa el Romero para tratar placas blanquecinas desprendibles característico de una candidiasis pseudomembranosa presentes en pacientes adultos mayores o después que hayan recibido periodos largos con tratamiento de antibióticos o con corticoides, con alguna enfermedad maligna o un déficit inmunitario (37), pacientes asmáticos con presencia de candidiasis y papilas linguales depapilada por medicación con corticoides, tratar zonas retro comisural, queilitis angular, estomatitis protésica, la glositis romboidal media, candidiasis mucocutánea crónica por déficit de linfocitos T y pacientes con candidiasis por infección del VIH (34).

En la medicina, los componentes polifenoles como los ácidos fenólicos, aceites esenciales y flavonoide tienen un gran beneficio terapéutico para esta área de la salud ya que es usado para tratar el asma bronquial, enfermedades inflamatorias crónicas, úlceras pépticas, hepatotoxicidad, ateroesclerosis, cataratas, cáncer, enfermedad cardiaca isquémica (26).

3.2.1.11 El Romero en el Perú

Los españoles de la Península Ibérica trajeron la planta a nuestro país en 1579. Desde entonces, se cultiva en los bosques y también crece libremente por su gran adaptación; por lo que se extiende en gran parte del Perú, comprendiendo la Costa, Sierra y Selva. En la actualidad, se cultiva mayormente en diferentes valles del Perú; los peruanos lo utilizan de manera tradicional casera por su variedad de propiedades medicinales. Para prevenir úlceras y otras enfermedades sistémicas principalmente utilizan las hojas y ocasionalmente las flores (24).

Según el Ministerio de Agricultura de Perú, de las plantas exportadas un 45% proviene de la Amazonía, el 39% en los Andes y un 16% de la costa. La mayoría de estas especies se obtuvieron de su entorno natural: 107 especies naturales en comparación con 13 especies cultivadas. Casi el 80 % de la población en el país es consciente de que la fitoterapia es un recurso medicinal, según las tendencias de uso de plantas medicinales en el país. Además, el 76% de los asegurados de EsSalud están dispuestos a recibir tratamientos con plantas medicinales (4).

3.2.2 Candida albicans

3.2.2.1 Definición

El nombre de Candida se deriva de la toga blanca que usaban los candidatos para el senado romano, conocida como "toga cándida" y tiene de sinónimos a los términos de candidosis oral, muguet o candidiasis oral. *C. albicans* es un hongo saprófito comensal (se puede convertir en una forma patógena) que vive en las superficies mucosas orales, mucosa gastrointestinal, mucosa de los genitales, área perianal de los humanos, así como en la piel (28-38). La disbiosis causada por antibióticos, la inmunosupresión iatrogénica, las intervenciones médicas que deterioran la barrera mucocutánea y/o los mecanismos protectores del huésped permiten que *C. albicans* se convierta en un patógeno oportunista y cause enfermedades mucocutáneas debilitantes y/o enfermedades sistémicas potencialmente mortales (22). Las infecciones de Candidiasis orales son las más comunes en humanos. Los microorganismos que causan son varios tipos de Candida, especialmente *C. albicans* Para diagnosticar la Candidiasis no basta con la detección simple de Candida. Solo en el caso de una imagen clínica durante la evaluación intraoral, es decir, una infección evidente, se puede establecer este diagnóstico. *C. albicans* coloniza el epitelio mucoso como un parásito facultativo y actúa como un hospedero (33).

3.2.2.2 Epidemiologia

La candidiasis suele ser una infección endógena. En muchos adultos sanos, la flora normal de la cavidad oral incluye especies de Candida sin manifestación clínica. Se trata de microorganismos saprófitos que se convierten en patógenos facultativos. Las tasas de aparición de Candida son muy variadas en la literatura: En los adultos sanos los microorganismos estarían presente en el 55% y en niños sanos 45-65%. La Sociedad Alemana de Nutrición informa que la especie de Candida está en un 75% en adultos. Las personas con enfermedades del sistema inmunitario y las que reciben radioterapia presentan un porcentaje significativamente mayor (28).

Un estudio en Perú sobre la Candidiasis oral en neonatos menciona que es una infección oportunista muy común en los recién nacidos. La incidencia real es desconocida ya que no siempre se publica. La tasa de incidencia es del 4 al 18 % de los bebés recién nacidos. Además, la incidencia se correlaciona inversamente con el peso del recién nacido (40).

En el Perú no es muy investigado esta infección micótica, su perfil de susceptibilidad y su distribución. Un estudio hecho en un hospital pediátrico de Lima en el área de UCI, se encontró en el torrente sanguíneo un 41% del género Candida. Otro estudio hecho en un Hospital de Lima para adultos en el área de UCI se encontró en el torrente sanguíneo un 11.6% del género Candida después de *Staphylococcus aureus* (41).

3.2.2.3 Taxonomía

Tabla 04. Clasificación taxonómica de *C. albicans* (39).

Reino	Fungi
Filo	Ascomyceta
Clase	Saccharomycetes
Orden	Saccharamycetaceae
Familia	Saccharamycetaceae
Genero	Candida
Especie	*Candida albicans*

3.2.2.4 Descripción del género Candida

Aproximadamente 200 tipos de Candida existen y diez han sido asociados con enfermedades. De estas, la más común es la especie *C. albicans*, que representa 60-80% de todas las enfermedades causadas por Candida. Además, una docena del género Candida puede adaptarse a 37 grados centígrados. y algunas veces ser dañinas para el hombre, incluyendo: *C. tropicalis, C. albicans, C. krusei, C. guillermond, C. kefyr, C. zeylanviides, C. parakrusei, C. stellatoidea y C. brunnptii*. (29).

Candida es un hongo levaduriforme polimórfico con diferentes formas de crecimiento. Se diferencian morfológicamente los blastoconidios (blastosporas largas), las hifas verdaderas y pseudohifas. Las hifas formadas de Candida pueden invadir el epitelio por expansión invasiva. La reproducción en los brotes suele producirse por gemación (blastosporas) y células filamentosas (pseudomicélidos) (28).

3.2.2.5 Descripción de la especie *Candida albicans*

La *C. albicans* es responsable de la mitad de toda la candidiasis y frecuentemente se ubican en boca, la vagina, la mucosa del tubo digestivo y piel que esté cerca pliegues u orificios de forma natural pueden colonizarse causando Dermatomicosis (28). El sistema de defensa de nuestro cuerpo ayuda mediante la regularización del equilibrio de ácidos y los otros componentes de la flora oral a controlar su crecimiento (38). La *C. albicans* se presenta normalmente en forma de célula ovalada parecida a una levadura de 2 a 4 micras, con paredes finas; sin embargo, se han encontrado distintas formas filamentosas de diferentes tamaños. (30,31).

Esta especie *C. albicans* de ser un comensal pasará a ser patológico por múltiples condiciones locales (xerostomía, tabaquismo, uso de prótesis removible sin higienizar, fármacos, mala higiene oral mayor en pacientes de la tercera edad, alta ingesta de carbohidratos y sistémicas (Diabetes Mellitus, obesidad, disminución del sistema

inmune, tratamientos con antibióticos y corticosteroides). El calor, humedad, sudoración e higiene oral inadecuada convierte a esta especie en patógena.

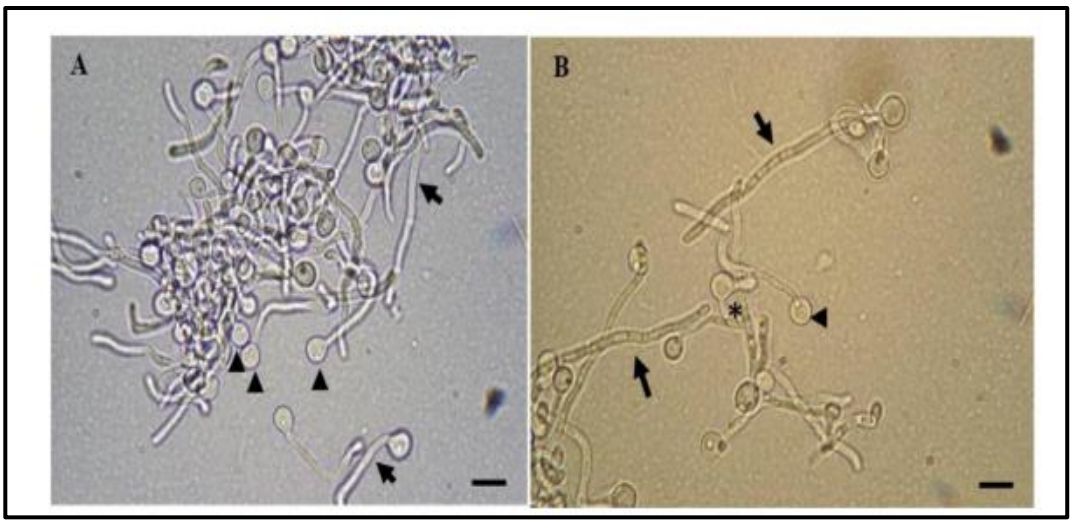


Figura 04. Imágenes de microscopía óptica de *C. albicans* en las puntas de las flechas se observa las clamidosporas, en las flechas las hifas y en el asterisco una pseudohifas (22).

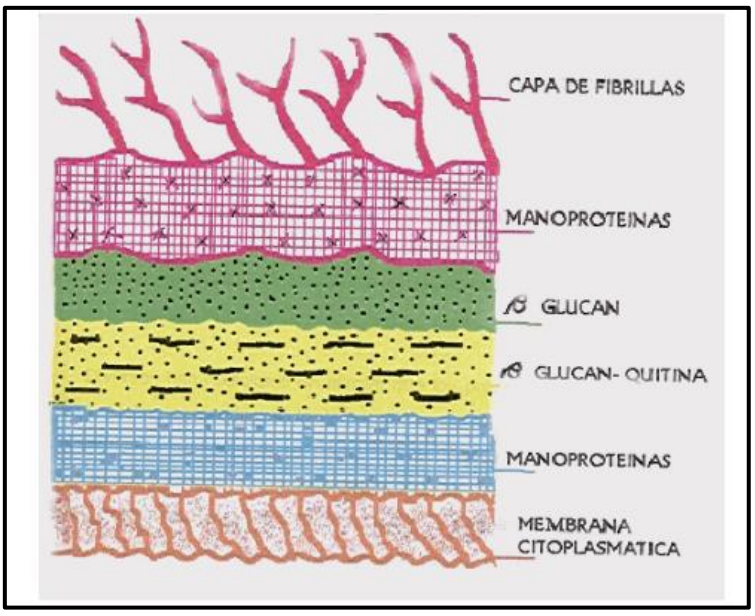


Figura 05. Esquema representativo de una pared celular de *C. albicans* (39).

3.2.2.6 Los factores de virulencia

- **Morfogénesis:** Tiene la capacidad de ser reversible dando el aspecto de ser una hifa, pseudohifas o blastoconidias; alterando así el comportamiento de la superficie celular, el aspecto de la colonia y las características metabólicas, bioquímicas y moleculares, haciéndola más virulenta durante la infección (32).
- **La adherencia a distintas superficies:** La *C. albicans* se va a adherir bastante bien a distintas superficies, por ejemplo, en células endoteliales, epiteliales y materiales dentales. Utiliza moléculas conocidas como adhesinas, que incluyen proteínas de secuencia de aglutamina (ALS), con proteínas en la pared de la hifa (Hwp1), proteínas de unión a GPI (glicosilfosfatidilinositol) entre otros (32).
- **El desarrollo de enzimas hidrolíticas:** Las proteinasas específicas de la enfermedad y las fosfolipasas son unas de ellas. Se encontraron 10 isoenzimas activas de proteinasa tales como Sap (proteinasa aspártica secretada) de estas la Sap1, Sap3 y Sap6 involucradas con infecciones orales además las Sap1y Sap 2 son las causantes en las infecciones vaginales (32).
- **Aumento del pH:** En condiciones de escasez de nutrientes la *C. albicans* posee la virtud de regular y controlar su pH extracelular; lo alcaliniza el medio que rodea e induciéndose después en forma de hifas (32).
- **Formación de biopelículas:** Estas biopelículas están formadas por una mezcla de pseudohifas y levaduras, que se distinguen por su capacidad para resistir los antifúngicos y las defensas del huésped (32).

3.2.2.7 Clasificación y cuadro clínico

La candidiasis generada por la *C. albicans* tiene muchos tipos de síntomas y se utilizan algunas clasificaciones. Las manifestaciones clínicas de un solo paciente pueden variar. Añadir que la diferencia clínica de lo agudo y crónicas no siempre es sencilla, especialmente en personas que padecen de VIH (28).

FORMA AGUDA Y CRÓNICA:

- **La forma pseudomembranosa:** Aunque no es la variante más común, se considera la forma "clásica" de la candidiasis. La placa blanda, blanca o amarillenta es el signo más común además se puede quitar con gasa y tiene una apariencia similar a la de leche coagulada. Las membranas mucosas pueden verse afectadas en diferentes grados. Es común que las áreas debajo de las placas muestran síntomas inflamatorios al principio. En general, las áreas adjuntas no están perturbadas. Cuando se separan las placas, puede ocurrir una pequeña hemorragia (28).
- **La forma eritematosa o forma atrófica**: Es la variante más común. Con frecuencia aparece junto con la infección por VIH o tras un tratamiento antibiótico. El rasgo distintivo es la presencia de zonas mucosas rojizas de tamaño variable que pueden causar un efecto de dolor o quemazón. La candidiasis eritematosa es la única de las variantes que puede causar dolor. En general, se encuentra en lengua (sin papilas filiformes), en la mucosa yugal y en el paladar. Su forma "atrófica" del término se utiliza principalmente en relación con las lesiones linguales (28).
- **La forma hiperplásica:** Una variante poco frecuente caracterizada por cambios en el aspecto de placa blanca en la que se encuentran hifas de Candida. Suele confundirse a menudo con leucoplasia. Lo encontramos principalmente en el área comisural posterior de las mejillas. Las úlceras blancas no se pueden retirar. Un factor de riesgo importante para esta variante es el tabaquismo. Se encuentra frecuentemente asociado con la queilitis angular (28).

Las alteraciones asociadas con *C. albicans:*

- **La Queilitis angular llamada también boqueras o queilitis angular infecciosa**: Para los adultos está causada principalmente por una infección fúngica, mientras que, para los niños, el organismo causante en la mayoría de casos son los cocos. Como consecuencia de la alteración de dimensión vertical (por ejemplo,

edentulismo, bruxismo o alteraciones de la oclusión) se forman pliegues comisurales lo que favorece la aparición de pliegues aumentando la humectación en la piel (28).

- **La Estomatitis protésica**: La Candida permite brindar distintas formas de estomatitis protésica. Lo más frecuente es que se trate de la Candidiasis atrófica persistente. La forma eritematosa es característico de la mucosa presente debajo de la prótesis. Se diferencian el tipo I, el tipo II y el tipo III de Newton (35).
- **La Glositis romboidal media:** La presentación de la glositis romboidal media es un área depapilada ubicada en la lengua entre la segunda y la tercera parte de dicho órgano. Actualmente, la Candidiasis atrófica localizada es la lesión lingual con la que se clasifica (28).
- **Lesiones orales candidiásica mucocutáneas sistémicas:** Son lesiones que se van a generalizar y ser intervenidas por un internista o dermatólogo. Se da mayormente por déficit inmunitario asociado a los linfocitos T. Se ubica con frecuencia en toda la zona dorsal de la lengua.

3.2.2.8 Factores locales y sistémicos del huésped

FACTORES LOCALES

- Los cambios epiteliales que ayudan a una mejor adhesión de *C. albicans* por ejemplo un epitelio fino, las heridas formadas bajo prótesis y la radioterapia oncológica (28).
- El tabaco (una relación clara, especialmente en la forma persistente de hiperplásica) (28).
- Las lesiones leucoplásicas (28).
- Xerostomía: reducción en la cantidad de la saliva está relacionada con una disminución en su efecto antimicótico y una alteración del pH. En la mayoría de los casos relacionados con los que reciben medicación de neurolépticos y antidepresivos (28).

- El uso tópico de los corticosteroides genera una supresión del sistema inmunitario local y fomenta la infección de *C. albicans* (28).
- Recubriendo con una prótesis: las personas edéntulas que llevan prótesis son más susceptibles a la contaminación por germen patogénico (28).

FACTORES SISTÉMICOS DEL HUÉSPED

- La inmunosupresión causada por el trasplante de órganos o médula ósea y la inmunodeficiencia del sistema inmunológico (VIH) (28).
- Una infección orofaríngea del género Candida puede ser la manifestación debido a una infección por HIV u otra enfermedad grave (28).
- Fisiológicas deficiencias del sistema inmunológico (niños, ancianos, embarazo) (28).
- La supresión del sistema inmunológico asociado a las enfermedades oncológicas (linfomas, carcinoma, leucemia) (28).
- Los tratamientos continuos con antibióticos de amplio espectro generan una reducción en la flora bacteriana favoreciendo la aparición de hongos entre ellos de *C. albicans* (28).
- La prescripción de corticosteroides como la cortisona por largos periodos de tiempo (principalmente por inhalación), los anticonceptivos en altas concentraciones de estrógeno y otros antihistamines que inducen a la formación de candidiasis por *C. albicans* (28).
- La malnutrición por falta de hierro, la falta por ácido fólico, la falta por vitamina B12 y por falta de zinc altera el epitelio, lo que favorece la aparición de candidiasis por *C. albicans* (28).
- Los trastornos endocrinos como la diabetes mellitus (28).
- Las hemopatías (28).

3.3 Definición de término

- **Concentración**: Cantidad de soluto en una cantidad de disolvente.

- **Solubilizar:** Solubilizar significa transformar químicamente una sustancia de una soluble a una insoluble para un solvente específico.
- **Extracto etanólico:** Se trata de mezclar la planta con un disolvente (alcohol) haciendo posible separar sus principios activos.
- **Taxonomía:** Es una disciplina que investiga los fundamentos, los enfoques y los propósitos en la clasificación. En biología, se usa principalmente para indicar una clasificación jerarquizada en seres vivos.
- **Botánica:** Estudia las plantas, sus relaciones entre ellas, con otros seres vivos y el medio donde crecen. Es una disciplina biológica.
- **Virulencia**: carácter patógeno de un microorganismo, como hongos, bacterias o virus. Como resultado, la virulencia es la capacidad de un microorganismo para causar daño a su huésped, es decir, su grado de maldad.
- **Metabolito**: Son sustancias orgánicas producidas por bacterias, hongos o plantas que no están involucradas directamente en el normal crecimiento, reproducción o desarrollo de un organismo.
- **Cepas:** En microbiología, una cepa es un grupo de microorganismos que pertenecen a una misma especie y se originan en una única célula o muestra.
- **Agar Sabouraud:** Es una técnica no selectiva para cultivar y mantener hongos patógenos y no patógenos, especialmente dermatofitos.
- **Efecto antifúngico**: Cualquier sustancia capaz de detener el desarrollo de cierta variedad de hongos o inclusive matarlos, se conoce también como antimicótico.
- **Nistatina:** Se utiliza en el tratamiento de algunas afecciones micóticas del recubrimiento en la mucosa oral, del estómago y los intestinos. Una clase de medicamentos antimicóticos llamados poliénicos incluye la nistatina.
- **Papel filtro Whatmann:** Los papeles de filtro para análisis cuantitativo de grado 41 Whatman TM se utilizan en procedimientos analíticos con partículas gruesas y precipitados gelatinosos. Se utiliza para análisis cuantitativos y gravimétricos, así como para la filtración por presión o en vacío.

3.4 Hipótesis

H1*:* Existe nivel de efectividad antifúngica in vitro del E.E. *Salvia Rosmarinus* frente a *C. albicans.*

Ho: No existe nivel de efectividad antifúngica in vitro del E.E. *Salvia rosmarinus* frente a *C. albicans.*

3.5 Operacionalización de las variables

- **Variable independiente:** Diferentes concentraciones del E.E de *Salvia rosmarinus*.
- **Variable dependiente:** Efecto antifúngico del E.E de *Salvia rosmarinus* sobre *C. albicans*

Variables de control

- Control negativo: DMSO
- Control positivo: Nistatina (100000 Ui/mL)

IV. DISEÑO METODOLÓGICO

VARIABLE	DEFINICION OPERACIONAL	DIMENSION	INDICADOR	ESCALA	VALOR
INDEPENDIENTE Extracto etanólico de *Salvia rosmarinus* (Romero) a diferentes concentraciones	Sustancia etanólica que contiene el extracto a diferentes concentraciones de la *Salvia Rosmarinus*	Mayor o menor concentración del extracto etanólico de *Salvia rosmarinus*	Concentraciones • 3gr de extracto seco + 3ml DMSO=100% • 1ml DMSO+1ml100%=50% • 1ml DMSO+1ml 50%=25% • 1mlDMSO+1ml25%=12.5% • 1mlDMSO+1ml12.5%=6.25%	Ordinal	6.25% 12.5 % 25% 50% 100%
DEPENDIENTE Efectividad antifúngica del extracto etanólico de *Salvia rosmarinus* (Romero) sobre *Candida albicans*	El desarrollo y crecimiento micótico depende de la actividad antifúngica de los extractos aplicados	Mayor o menor actividad antifúngica	Medición del diámetro del halo de inhibición usando la regla de vernier	Razón	<u>Escala de Durafford.</u> Escala de Sensibilidad • S. nula: ≤ 8mm • S. límite: 9 a 14 mm • S. media: 15 a 19 mm • S. muy sensible: ≥ 20mm

4.1 Tipo de investigación

- Estudio experimental in vitro con un enfoque cuantitativo

4.2 Población

4.2.1 Población y muestra

- Población: Cepas de *C. albicans* ATCC 10231

- Muestra: 10 placas Petri con Agar Sabouraud presentan cepas de *C. albicans* ATCC 10231 cada uno contiene concentraciones de extracto etanólico de *Salvia rosmarinus* al 100%, 50%, 25%, 12.5% y 6.25%, control positivo y control negativo.

4.2.2 Criterios

4.2.2.1 Criterio de inclusión

- Cepas de *C. albican* ATCC 10231 sin algún contaminante
- Especie vegetal identificada previamente.
- Muestra vegetal recolectada del mismo lugar de cultivo.

4.2.2.2 Criterios de exclusión

- Placas en las que no haya desarrollado cepa de *C. albicans* u hayan presentado otros microorganismos.
- Muestra vegetal con signos de plagas o tratamiento con pesticidas.

4.2.3 Unidad de análisis

Evaluación de cada placa petri sobre la acción de la *Salvia rosmarinus* sobre las cepas de *Candida albicans.*

4.3 Método

4.3.1 La obtención del extracto etanólico de *Salvia rosmarinus* (Romero)

1. EL Romero ha sido recogido del distrito de Viques, provincia de Huancayo, departamento de Junín-Perú (3.050 msnm.), fueron lavadas con NaOCl y secadas al medio ambiente por 1 semana con temperatura ambiental, expuestas al sol para que esté libre de humedad. Además, una pequeña parte del total de la planta (hoja, flores y tallos) fue llevada al museo de Historia Natural del Perú de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (UNMSM) (Lima, Perú).

2. Posteriormente, toda la planta recolectada en dicha región, fue trasladada a las instalaciones de la escuela de Farmacia y Bioquímica ubicada en la UNMSM (Lima, Perú) la cual actualmente está bajo la dirección del Dr. Américo Castro Luna.

3. Toda la planta fue pesada en una balanza convencional dando como resultado 5.20 kilogramos las cuales fueron deshojadas, estas hojas fueron pesadas dando como resultado 1 kilogramo.

4. Luego fueron llevadas al molino de cuchillos que contenía una malla con agujeros de 4mm que servía como colador, el producto fue llevado a la balanza convencional dando como resultado 400 gramos de hojas molida de Romero

5. Estas hojas molidas fueron colocadas en una botella grande de vidrio en color ámbar con tapa esmerilada y se le añadieron 2.5 litros de alcohol de 96 grados donde se dejó macerar durante 1 semana, agitándolo 3 veces al día durante 10 minutos.

6. Pasado la semana el producto pasó por un pre filtrado en la cual se separó lo líquido y lo sólido para separar los restos de hojas, flores y tallos molidos.

7. La porción líquida pasó por un filtrado la cual consistía en pasarlo 3 veces por el embudo buchner y papel filtro. Primero en papel filtro Whatman número 41, segundo filtrado se realizó con papel filtro Whatman número 2 y, por último, el tercer filtrado con papel Whatman número 1 mientras el producto era recolectado en un matraz de

Erlenmeyer en mililitros en donde se obtuvo como cantidad final 1 litro (1000 ml) de E.E de *Salvia rosmarinus*.

8. Para terminar con la filtración total dicho extracto etanólico pasó por un equipo de Bomba de Succión donde se pudo obtener un extracto muy purificado y libre de cualquier germen.

9. Dicho extracto etanólico fue vaciado dentro de un matraz con base redondo para su concentración en un evaporador rotatorio (Rotavapor) para la evaporación parcial del alcohol de 96 grados este procedimiento duró aproximadamente 2 horas.

10. El producto que se obtuvo luego de la evaporación parcial fue colocado en una cápsula de porcelana de laboratorio la cual fue llevado a desecación a una estufa de 45 °C por una semana para la evaporación total de alcohol, quedando solamente extracto puro seco de Romero. Dicho producto pesó 33.9 gr para esto se usó una báscula gramera.

11. Luego se conservó en un frasco de vidrio pequeño de color ambar con tapa enroscada y fue trasladado al laboratorio de microbiología de la Facultad de Odontología de la UNMSM (Lima, Perú). Con este extracto seco de Romero se preparó las concentraciones de 6.25%, 12.5%, 25%, 50%, 100% y se puso en los pocillos para demostrar su actividad antifúngica contra *C. albicans.*

4.3.2 La identificación taxonómica

En el Museo de Historia Natural de la UNMSM, estas muestras recolectadas, se estudiaron y se determinaron utilizando el sistema de clasificación según Cronquist (1988).

4.3.3 Cepas de *Candida albicans*

Se usó una cepa común de *C. albicans* ATCC (Colección de culturas del tipo estadounidense) 10231, que ya fue identificada por el laboratorio MICROBIOLÓGICAS

y vendida por la empresa GENLAB S.A.C. Esta cepa se utilizó para activar y desarrollar en Agar Sabouraud.

4.3.4 Preparación del medio de cultivo

La preparación se realizó en laboratorio de microbiología de la Facultad de Odontología de la UNMSM. Para ello se usó el Agar Sabouraud las cuales fueron preparadas sobre las placas Petri para el crecimiento y desarrollo de la *C. albicans* En total se prepararon 10 placas Petri que serán conservadas para el día de la ejecución. Toda la elaboración y procedimiento fueron realizadas por el personal técnico del laboratorio.

4.3.5 Determinación de la actividad antifúngico in vitro

4.3.5.1 Método de difusión en Agar Sabouraud

Fundamento: La colocación de las sustancias en un medio sólido impide el desarrollo de *C. albicans* lo que se demuestra su actividad mediante halos de inhibición en milímetros.

4.3.5.2 Preparación de las soluciones

Para cada una de las concentraciones del extracto etanólico de *Salvia rosmarinus* al 100 %, 50%, 25%, 12.5% y 6.25% se utilizó como diluyente DMSO por ser el más compatible con el extracto. Las composiciones siguientes fueron: 100% (3 gr de extracto seco + 3 ml DMSO), 50% (1 ml DMSO + 1 ml del 100%), 25% (1 ml DMSO + 1 ml del 50%), 12.5 % (1 ml DMSO + 1 ml 25%), 6.25% (1 ml DMSO + 1 ml del 12.5%). Para los gramos se usó una báscula gramera y para los mililitros se usó una micropipeta de 1000 microlitros que equivale 1 mililitro.

4.3.5.3 Reactivación y sembrado de la *Candida albicans*

12. Las cepas de *C. albicans* ATCC 10231 fueron sembradas asépticamente sobre la placa petri con Agar Sabouraud previamente ya preparado esto será realizado con un mechero al lado para evitar la mayor contaminación posible. Para ello, con la ayuda de

un asa de siembra estéril se pasó a sembrar la cepa de *C. albicans* en la placa petri y fue llevada a la incubadora para su reactivación durante 5 días a 37 grados centígrados.

13. Posteriormente, con la ayuda de un asa de siembra estéril se recogió una pequeña muestra de colonias formadas, se colocó dentro de un tubo de ensayo que contenía suero fisiológico 2 ml para luego homogenizar la muestra a una escala de turbidez al 0,5 según Mc Farland (suspensión experimental).

14. Seguidamente en las 10 placas Petri con Agar Sabouraud se colocó con una micropipeta 100 ul del tubo de suspensión y fue esparcido con una espátula de Drigalsky mediante movimientos horizontales y verticales en cada placa.

15. Luego en cada una de las 10 placas de Agar Sabouraud se hizo 7 pocillos para lo cual se usó un sacabocado con diámetro de 6 mm y se los distribuyó mediante el método de Kirby Bauer.

16. En cada pocillo se realizó la colocación de 50 ul de las distintas concentraciones de extracto al 6.25%, 12.5%, 25%, 50%, 100% junto con los controles positivo y negativo. Este procedimiento se repitió en las 10 placas de Agar Sabouraud.

5.1 El procedimiento fue de la siguiente manera en la placa petri: 1er pozo con Nistatina (control positivo), 2do pozo DMSO (control negativo), 3er pozo con extracto de *Salvia rosmarinus* de 6.25%, 4to pozo con extracto de *Salvia rosmarinus* al 12.5%, 5to pozo con extracto de *Salvia rosmarinus* al 25%, 6to pozo con extracto de *Salvia rosmarinus* al 50 % y 7mo pozo con extracto de *Salvia rosmarinus* al 100 %. Y esto se repitió en las 9 placas siguientes.

6. Finalmente las 10 placas se incubaron a temperatura de 37 °C durante un periodo de 24 horas para evitar la sobrepoblación de colonias.

4.3.5.4 Lecturas de los halos de inhibición

La lectura fue realizada mediante la medición en milímetros (mm) y observación de las áreas notorias de inhibición contra el desarrollo fungal, registrando los diámetros promedio creados alrededor de los pozos.

4.4 Recolección de datos

La lectura se llevó a cabo observando y midiendo las áreas claras de inhibición de la proliferación de hongos en milímetros utilizando la regla de Vernier y registrando los diámetros de estas áreas en una hoja previamente preparada para este propósito (ver en anexo 02).

4.5 Procesamiento de análisis de datos

Se calcularon medidas de tendencia central, como la media, la desviación estándar, el rango, el mínimo y el máximo, para cada concentración de extracto de *Salvia rosmarinus* y para la Nistatina. Estas medidas proporcionan información sobre la distribución y la variabilidad de los halos inhibitorios observados en el estudio.

Para la estadística inferencial se usó Shapiro-Wilk dando como prueba de normalidad un P>0.05 (Ver Anexo 05). Se usó la prueba paramétrica ANOVA de medidas repetidas para muestras pareadas con un valor significativo (p=0.001) (ver Anexo 06).

Para hallar específicamente la diferencia intragrupo en el extracto etanólico de *Salvia rosmarinus* en distintas concentraciones, se aplicó un análisis múltiple Post Hoc con ajuste de intervalo de confianza de Bonferroni (Tabla 07).

V. RESULTADOS

I. Estadística descriptiva

En la **tabla 05**, se observa que el extracto etanólico *de Salvia rosmarinus* al 100% (media de 12,29mm) tuvo una mayor actividad a diferencia de las demás concentraciones al 50%, 25%, 12.5% y 6.25%, pero ninguna de las anteriores fue mayor a la Nistatina mostrando esta una mayor actividad frente a la *Candida albicans*. Observándose también que el DMSO no tuvo ninguna actividad.

Las concentraciones de extracto etanólico de *Salvia rosmarinus* están directamente proporcionales a la disminución del tamaño medio de los halos inhibitorios.

Tabla 05. Medidas de tendencia central del diámetro de los halos inhibitorios (mm) del E.E de *Salvia rosmarinus*.

	Extracto etanólico de *Salvia rosmarinus*					Control (+)	Control (-)
	100%	**50%**	**25%**	**12,5%**	**6,25%**	**Nistatina**	**DMSO**
Media	12,29	10,30	10,15	9,59	9,73	16,44	5
D.S.	3,01	3,37	3	2,95	2,31	2,26	0
Rango	8,51	10,82	8,79	7,80	6,39	7,65	0
Mínimo	7,52	5,20	6,17	5,50	6,71	12,30	5,00
Máximo	16,03	16,02	14,96	13,30	13,10	19,95	5,00

Fuente: Elaboración propia

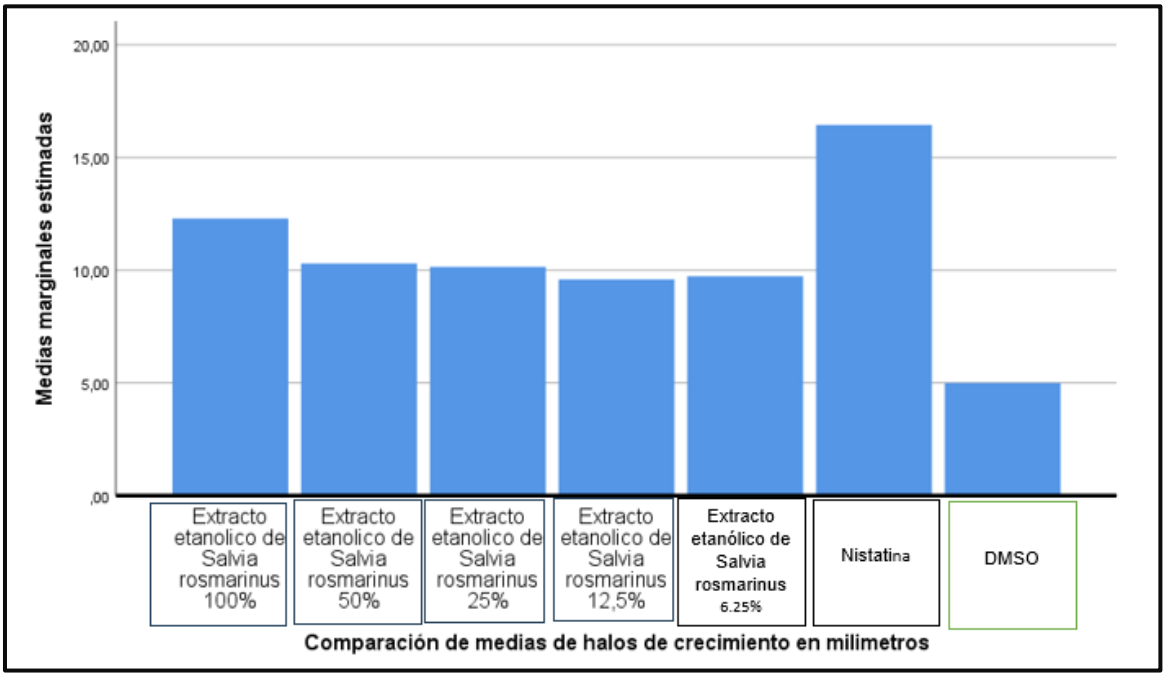


Figura 06. Comparación de la media de los diámetros de halos de inhibición de crecimiento con las distintas concentraciones de *Salvia rosmarinus.*

En la **tabla 06**, se observa que las cepas de *C. albicans* presentaron sensibilidad al E.E de *Salvia rosmarinus* en todas sus concentraciones y al control positivo menos al control negativo.

Además, con respecto a las concentraciones, las del 100% presentó un mayor nivel de sensibilidad antifúngica (sensibilidad media) ya que de las 10 placas 4 presentaron esta condición. Seguidas por las demás concentraciones que presentaron un menor nivel de sensibilidad antifúngica. La Nistatina presentó un mayor nivel de sensibilidad antifúngica al resto de las concentraciones (sensibilidad media) ya que de las 10 placas 9 presentaron esta condición. El control negativo no presentó sensibilidad antifúngica.

Tabla 06. Sensibilidad antifúngica del E.E de *Salvia rosmarinus* contra *C. albicans*

	Extracto etanólico de *Salvia rosmarinus*					Control (+)	Control (-)
Niveles de Sensibilidad	**6.25% n (%)**	**12.5% n (%)**	**25% n (%)**	**50% n (%)**	**100% n (%)**	**Nistatina 100000 Ul/ml n (%)**	**Dimetilsulfóxido n (%)**
Sensibilidad nula (-)	4 (40)	4 (40)	3 (30)	3 (30)	1 (10)	0 (0)	10 (100)
Sensibilidad límite (+)	6 (60)	6 (60)	6 (60)	6 (60)	5 (50)	1 (10)	0 (0)
Sensibilidad media (++)	0 (0)	0 (0)	1 (10)	1 (10)	4 (40)	9 (90)	0 (0)
Sumamente sensible (+++)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Total	10 (100)	10 (100)	10 (100)	10 (100)	10 (100)	10 (100)	10 (100)

Escala de Duraffourd: S. nula: < 8mm; S. límite 8≤->14 mm; S. media 14≤x-<20 mm; S. sumamente sensible ≥20 mm

II. Estadística inferencial

Para la estadística inferencial se usó la prueba de Shapiro-Wilk donde todos los grupos presentaron distribución normal (ver en Anexo 05). Además, para la comparación intragrupo de los halos inhibitorios del Extracto etanólico de *Salvia rosmarinus* se usó ANOVA de medidas repetidas para muestras pareadas (Ver en Anexo 06) ya que la unidad de análisis (10 placas petri con el extracto y cepas de *Candida albicans*) es la misma en un solo momento (a las 24 horas).

En la **tabla 07,** se observa que el extracto etanólico al 100% presenta una diferencia estadísticamente significativa de las demás concentraciones, mientras que las concentraciones al 6,25%, 12,5%, 25% y 50% no presentan diferencia estadísticamente significativa. La Nistatina es diferentemente significativa a todas las concentraciones al igual que el DMSO.

GRUPOS	X̄* (DE)MM**	P***
EXTRACTO ETANÓLICO AL 6,25%	9,73 (2,31) B	0,001
EXTRACTO ETANÓLICO AL 12,5%	9,59 (2,95) B	
EXTRACTO ETANÓLICO AL 25%	10,15 (3) B	
EXTRACTO ETANÓLICO AL 50%	10,30 (3,37) B	
EXTRACTO ETANÓLICO AL 100%	12,29 (3,01) A	
NISTATINA (100000 UL/ML)	16,44 (2,26) C	
DMSO (DIMETILSULFÓXIDO)	5 (0) D	

*** media de los diámetros de los halos inhibitorios en milímetros; ** desviación estándar en milímetros; ***prueba de significancia; A, B, C, D: Las diferentes letras representan las diferencias estadísticamente significativas.**

Tabla 07. Comparación múltiple intragrupo de los halos inhibitorio de los E.E de *Salvia rosmarinus*, Nistatina y DMSO**.**

Los resultados de la **tabla 07** y **figura 07** muestra que la Nistatina tuvo mayor actividad que el E.E de *Salvia rosmarinus* en todas sus concentraciones sobre cepas de *C. albicans*, de igual forma el E.E de *Salvia rosmarinus* al 100% presentó actividad concentraciones del 50%, 25%, 12.5% y 6.25% presentaron actividad antifúngica similar y menos que la del 100% y Nistatina. DMSO no presentó ninguna actividad antifúngica.antifúngica superior a todas las demás concentraciones. Los extractos a las

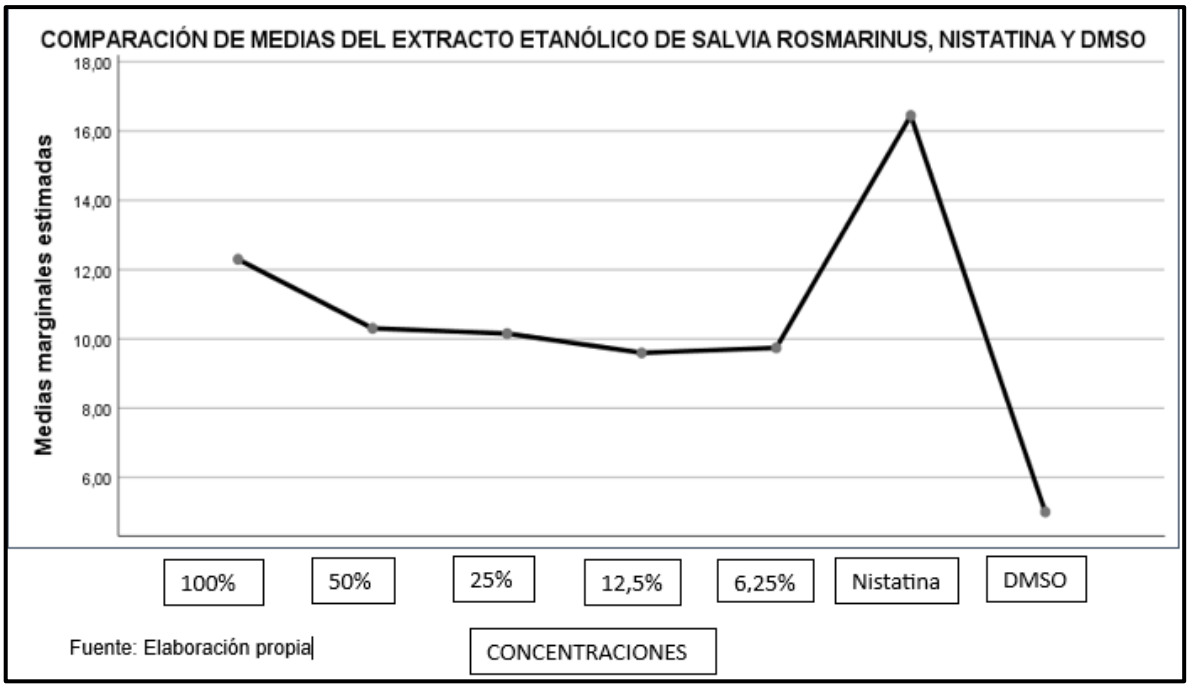


Figura 07. Comparando las medias de los diámetros de los halos inhibitorios del E.E de *Salvia rosmarinus* en sus distintas concentraciones, Nistatina y DMSO.

VI. DISCUSIÓN

La infección micótica más común que afecta en cavidad oral es la Candidiasis oral, cuyo agente principal es la *C. albicans*. Sin embargo. En el Perú no es muy investigado ya que en su centro de vigilancia epidemiológica del Ministerio de Salud no existe una vigilancia para esta infección micótica. Esto coincide con Moreno (2017) donde menciona que son escasos los estudios hechos en Lima-Perú reportando una incidencia de 1,18 casos por cada 1000 hospitalizaciones y solamente un 9% de cultivos positivos para el género Candida.

El tratamiento de esta infección se basa en antifúngicos locales y sistémicos, pero en los últimos años ha aumentado el número de casos de pacientes que desarrollan resistencia a estos fármacos, lo que ha llevado un aumento en la cantidad de estudios con respecto a investigaciones sobre productos naturales por su efecto terapeútico. Esto afirma lo mencionado por Dalben Dota, et al. (2008) quienes aislaron levaduras del género Candida en pacientes con Candidiasis vaginal y lo enfrentaron con fármacos antifúngicos como Fluconazol, Ketoconazol, Itraconazol y Nistatina encontrando resistencia en todos los fármacos menos en la Nistatina, pero difiere con un estudio hecho en Perú por Palomino (2020) quien menciona que el 92% de cepas aisladas del género Cándida fueron sensibles a la anfotericina B, Fluconazol y Voriconazol.

La candidiasis oral en odontología es muy frecuente que aparezca debido a los múltiples factores de riesgo (tabaco, alto consumo de carbohidratos, antibióticos de amplio espectro, edades extremas y enfermedad con inmunodeficiencia) es por ello la importancia del odontólogo de realizar una historia clínica correcta, esto concuerda con Bengel (2010) quien menciona que después de los médicos de cabecera, el odontólogo es el segundo grupo de profesionales de la salud más visitado. Por ende, está en la obligación de diagnosticar y tratarlas siempre en cuando no haya lesiones extraorales.

En el presente estudio se trabajó con Romero el cual fue recolectado y procesado por el investigador, con respecto a la metodología de trabajo se usó como solvente y control

negativo al DMSO y como control positivo a la Nistatina, así como lo realizó Diaz (2023) quien usó DMSO para diluir su extracto seco de *Erythroxylum coca y Eucalyptus glob*ulus frente a *C. albicans*, Solano (2018) que usó el DMSO como control negativo frente a *C. albicans.* y a Huachaca (2023) usó DMSO como disolvente para la disolución de extracto seco de *Equisetum gigantem* L. “cola de caballo” frente a *Fusobacterium nucleatum*, microorganismo relacionado a las enfermedades periodontales.

Los resultados de esta investigación demostraron que hay actividad antifúngica de *Salvia rosmarinus* en sus diferentes concentraciones frente a cepas de *C. albicans*, estos resultados son similares por Oliveira, et al. (2019) quienes encontraron una reducción significativa al 39% de las proteínas totales de *C. albicans.* al enfrentarse con el extracto etanólico de *Salvia rosmarinus.*

De igual manera, los resultados del presente estudio evidenciaron que el E.E *de Salvia* rosmarinus frente a *C. albicans.* al 100% (halo de 12,29 mm) presentó mayor actividad antifúngica seguido de las concentraciones al 50%, 25%, 12.5% y 6.25% se obtuvieron 10,30 mm, 10,15 mm, 9,59 mm y 6,70 mm; respectivamente las cuales no fueron significativas, Además la Nistatina (16,44 mm) tuvo mayor actividad antifúngica frente a todas las concentraciones. Estos resultados concuerdan con el estudio hecho por De la Cruz Díaz (2023), quien determinó que la actividad antifúngica del extracto etanólico de *Salvia rosmarinus* frente a *C. albicans* al 100% fue mayor (18,40 +/- 0,32 mm) a comparación de los otros extractos al 75% (17,33 +/- 0,32 mm) y 50% (14,14 +/- 0,46 mm) pero la Nistatina fue mayor (26,44 +/- 0,33 mm) a todas las concentraciones ya que ambos estudios fueron evaluados a las 24 horas con un Mc Farland de 0,5.

Estudio realizado por Solano (2018), que investigó la esencia aromática del Romero al 100%, 75%, 50% y 25% sobre cepas de *Candida albicans*. Obtuvieron como resultado que existe una mayor actividad antifúngica al 100% (14,7mm) seguido por el de 75% (12,7 mm) además se encontró que las concentraciones de 50% y 25% no tiene actividad antifúngica. Pero todas las concentraciones son menores que el Fluconazol (25,8 mm).

Con respecto al 100% tiene concordancia con mi estudio ya que también se encontró una mayor actividad antifúngica a diferencia de las demás concentraciones, pero con respecto al 50% y 25% difieren ya que mis estudios si encontraron actividad antifúngica a estas concentraciones. De igual manera, la Nistatina tuvo mayor actividad antifúngica a diferencia de mis demás concentraciones.

Ugarte (2018) evaluó la actividad antifúngica del extracto etanólico de *Salvia rosmarinus* al 40 % y Nistatina sobre cepas de *C. albicans*. Encontrando una actividad antifúngica a esta concentración con un halo de 8,27 mm, pero menor a la Nistatina con un halo de 15,8 mm. Estos resultados son similares a los obtenidos por mi trabajo de investigación en las cuales se encontró actividad antifúngica con halos de 10,30 mm al 50%, 10,15 mm al 25% pero menor que la Nistatina (16,44 mm) los cuales fueron efectivos contra la *C. albicans* ya que ambos estudios fueron evaluados a las 24 horas y un Mc Farland 0,5.

Carranza (2016) comparó el efecto antifúngico del extracto etanólico y del aceite esencial de Romero al 100%, 75%, 50% y 25% sobre cepas de *C. albicans* encontrándose una mayor actividad antifúngica al 100% (14,73 mm) seguido de las demás concentraciones con 10,66 mm al 25%, 11,83 mm al 50%, 12,5 mm al 75% y un halo de 9,2 mm para el aceite esencial de Romero. Estos resultados son similares a los de mi trabajo de investigación ya que al 100% (12,29 ± 3,01 mm) presentó una mayor actividad antifúngica, seguido de las concentraciones de 50%, 25%, 12.5% y 6.25% que se obtuvieron 10,30 ± 3,37 mm, 10,15 ± 3 mm, 9,59 ± 2,95 mm y 6,70 ± 2,31 mm; respectivamente.

Según la escala de sensibilidad de Duraffourd en mi trabajo de investigación; el E.E *de Salvia rosmarinus* al 100% frente la cepa *C. albicans* presentó mayor sensibilidad antifúngica, seguidas de las concentraciones al 50%, 25%, 12.5% y 6.25%. La Nistatina presentó mayor sensibilidad antifúngica a diferencias de las demás concentraciones. Estos resultados concuerdan con los estudios De la Cruz Díaz (2023) que encontró una

mayor sensibilidad antifúngica al 100% seguida de las demás concentraciones al 50% y 75%. Pero, menores a la sensibilidad antifúngica de la Nistatina.

Los resultados de este estudio respaldan la actividad antifúngica de la *Salvia rosmarinus* contra *C. albicans*, lo que sugiere su potencial como una opción terapéutica para el manejo de infecciones fúngicas, especialmente en nuestro ámbito odontológico. Sin embargo, se requiere de investigaciones adicionales para determinar la eficacia clínica de este extracto y su posible aplicación en terapias combinadas para mejorar su efectividad antifúngica.

VII. CONCLUSIONES

1. El E.E de *Salvia rosmarinus* demostró un efecto antifúngico significativo contra cepas de *C. albicans* in vitro, mostrando una sensibilidad dosis-dependiente en las concentraciones evaluadas.

2. Se observó que la concentración al 100% presentó la mayor actividad antifúngica, seguida por las concentraciones del 50%, 25%, 12.5% y 6,25%, lo que sugiere un potencial terapéutico de la *Salvia rosmarinus* en el tratamiento de la *C. albicans*.

3. Aunque la actividad antifúngica de la *Salvia rosmarinus* fue menor en comparación con la Nistatina, un fármaco antifúngico convencional, los resultados respaldan su efectividad y la posicionan como una opción prometedora en el campo de la medicina alternativa para este hongo.

VIII. RECOMENDACIONES

1. Se sugiere realizar estudios adicionales que evalúen la actividad antifúngica de la *Salvia rosmarinus* en diferentes presentaciones, en diferentes medios de cultivo y diferentes lugares.
2. Es crucial realizar estudios comparativos y longitudinales más extensos para evaluar la capacidad antifúngica de varias especies de Romero, con el fin de ampliar el conocimiento sobre las propiedades antifúngicas de estas plantas medicinales.
3. Se sugiere realizar estudios de las especies de *Candida no albicans* debido a la prevalencia actual de estas.

IX. BIBLIOGRAFÍA

1. Echevarría-Merino H, Flores-Asenjo W, Garay-Ortega J, Roca-Moscoso MA, Salazar-Granara A, Echevarría-Merino H, et al. Reporte de consumo de plantas medicinales en gestantes del Centro de Salud Viña Alta, La Molina. Lima, Perú. Horizonte Médico (Lima) [Internet]. abril de 2021 [citado 27 de junio de 2023];21(2).

2. Meccatti VM, Ribeiro MCM, Oliveira LD de. Os benefícios da fitoterapia na Odontologia. Research, Society and Development [Internet]. 3 de marzo de 2022 [citado 27 de junio de 2023];11(3):e46611327050-e46611327050.

3. Moncada-Mapelli E, Salazar-Granara A, Moncada-Mapelli E, Salazar-Granara A. Medicina tradicional y COVID-19, oportunidad para la revaloración de las Plantas Medicinales Peruanas. Revista del Cuerpo Médico Hospital Nacional Almanzor Aguinaga Asenjo [Internet]. enero de 2020 [citado 27 de junio de 2023];13(1):103-4.

4. Organización Panamericana de la Salud. Situación de las plantas medicinales en Perú. Informe de reunión del grupo de expertos en plantas medicinales. (Lima, 19 de marzo del 2018). Lima: OPS; 2019.

5. Ramírez Viena L, Mostacero León J, López Medina E, De La Cruz Castillo AJ, Gil Rivero AE, Ramírez Viena L, et al. Aspectos etnobotánicos de Cuspón, Perú: Una comunidad campesina que utiliza 57 especies de plantas en sus diversas necesidades. Scientia Agropecuaria [Internet]. enero de 2020 [citado 27 de junio de 2023];11(1):7-14.

6. Flores-Villa Emmanuel, Sáenz-Galindo Aidé, Castañeda-Facio Adali Oliva, Narro-Céspedes Rosa Idalia. Romero (Rosmarinus officinalis L.): su origen, importancia y generalidades de sus metabolitos secundarios. TIP [revista en la Internet]. 2020 [citado 2024 Feb 07] ; 23: e20200266.

7. Meccatti VM, Oliveira JRD, Figueira LW, Lagareiro Netto AA, Zamarioli LS, Marcucci MC, et al. Rosmarinus officinalis L. (rosemary) extract has antibiofilm effect similar to the antifungal nystatin on Candida samples. An Acad Bras Cienc. 2021;93(2):e20190366.

8. Pérez-Delgado O, Vallejos-Campos EC. Actividad antifúngica in vitro del extracto crudo acuoso de Rosmarinus officinalis contra Candida albicans. JOURNAL OF THE SELVA ANDINA RESEARCH SOCIETY [Internet]. 1 de abril de 2019 [citado 27 de junio de 2023];10(1):45-51.

9. Eslava Rico LT. Prevalencia de candida albicans en cavidad oral de personas sistemicamente sanas. Revisión de la literatura. instname:Universidad Antonio Nariño [Internet]. 6 de marzo de 2021 [citado 27 de junio de 2023]

10. Santiváñez-Acosta R, Valenzuela-Oré F, Angulo-Bazán Y, Uso de terapias de medicina alternativa y complementaria en la provincia de Coronel Portillo, Ucayali, Perú. Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica [Internet]. julio de 2020 [citado 27 de junio de 2023];37(3):510-5.

11. Apisariyakul A, Vanittanakom N, Buddhasukh D. Antifungal activity of turmeric oil extracted from Curcuma longa (Zingiberaceae). J Ethnopharmacol. 15 de diciembre de 1995;49(3):163-9.

12. Wen L, Haddad M, Fernández I, Espinoza G, Ruiz C, Neyra E, et al. Actividad antifúngica de cuatro plantas usadas en la medicina tradicional peruana: aislamiento de 3'- formil - 2',4',6' - trihidroxidihidrochalcona, principio activo de Psidium acutangulum. Revista de la Sociedad Química del Perú [Internet]. julio de 2011 [citado 27 de junio de 2023];77(3):199-204.

13. da Silva Bomfim N, Kohiyama CY, Nakasugi LP, Nerilo SB, Mossini SAG, Romoli JCZ, et al. Antifungal and antiaflatoxigenic activity of rosemary essential oil

14. Oliveira J, Santana G, Afonso S, Reis L, Oliveira L. Total protein level reduction of odontopathogens biofilms by Rosmarinus officinalis L. (rosemary) extract: an analysis on Candida albicans and Streptococcus mutans. Brazilian Dental Science. 2019.

15. Brochot A, Guilbot A, Haddioui L, Roques C. Antibacterial, antifungal, and antiviral effects of three essential oil blends. Microbiologyopen. agosto de 2017;6(4):e00459.

16. Dentone S, Morales Cauti S. Determinación in vitro de la actividad antimicótica del aceite de romero (Rosmarinus officinalis) sobre Microsporum canis. Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú [Internet]. enero de 2017 [citado 27 de junio de 2023];28(1):56-61.

17. Achimón F, Brito VD, Pizzolitto RP, Ramirez Sanchez A, Gómez EA, Zygadlo JA. Chemical composition and antifungal properties of commercial essential oils against the maize phytopathogenic fungus Fusarium verticillioides. Rev Argent Microbiol. 2021;53(4):292-303.

18. Borges RS, Ortiz BLS, Pereira ACM, Keita H, Carvalho JCT. Rosmarinus officinalis essential oil: A review of its phytochemistry, anti-inflammatory activity, and mechanisms of action involved. J Ethnopharmacol. 30 de enero de 2019;229:29-45.

19. Gonçalves C, Fernandes D, Silva I, Mateus V. Potential Anti-Inflammatory Effect of Rosmarinus officinalis in Preclinical In Vivo Models of Inflammation. Molecules. 18 de enero de 2022;27(3):609.

20. De la Cruz Días, Luz Maria. Actividad antifúngica del extracto etanólico de Rosmarinus officinalis L. (Romero) frente a candida albican ATCC 10231 comaparado con nistatina.

21. de Macedo LM, Santos ÉMD, Militão L, Tundisi LL, Ataide JA, Souto EB, et al. Rosemary (Rosmarinus officinalis L., syn Salvia rosmarinus Spenn.) and Its Topical Applications: A Review. Plants (Basel). 21 de mayo de 2020;9(5):651.

22. Diaz A. Comparación del efecto antifúngico del extracto etanólico de Erythroxylum coca var. coca y Eucalyptus globulus frente a la Candida albicans. [Tesis de pregrado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Odontología, Escuela Profesional de Odontología; 2023

23. López Luengo MT. El romero. Planta aromática con efectos antioxidantes. Offarm [Internet]. 1 de julio de 2008;27(7):60-3.

24. Purca Peña TP. Efectividad antibacteriana «in vitro» del extracto etanólico de Rosmarinus officinalis (romero) sobre flora salival. 2013 [citado 27 de junio de 2023];97-97.

25. Bestagno V, Neira I, Gómez-Gaete P, Pastene E, Gómez M, Pérez MA, et al. Estudio del Efecto de un Enjuagatorio de Rosmarinus officinalis (Romero) en la Cicatrización de Heridas de Mucosa. International journal of odontostomatology [Internet]. diciembre de 2017 [citado 27 de junio de 2023];11(4):411-7.

26. Suárez SR, María I de. Actividad antimicrobiana in vitro del extracto etanólico de Rosmarinus officinalis (romero) sobre cultivos de bacterias anaerobias frecuentes en pacientes con bolsa periodontal. Repositorio de Tesis - UNMSM [Internet]. 2013 [citado 28 de junio de 2023]

27. Valenzuela Melgarejo R, Ibieta Hillerns C, Narváez CG. Efectividad del uso tópico de Salvia officinalis en la disminución del índice gingival en sujetos con gingivitis. Revista clínica de periodoncia, implantología y rehabilitación oral [Internet]. diciembre de 2011 [citado 28 de junio de 2023];4(3):110-3.

28. Bengel W. Candidiasis orales. Parte 1: Cuadro clínico, epidemiología y etiología. Quintessence (ed esp) [Internet]. 1 de diciembre de 2010 [citado 27 de junio de 2023];23(10):510-7.

29. Tello Vivanco J. Acción antimicrobiana del Anacardium occidentale sobre Candida albicans y Staphylococcus aureus. Estudio in vitro. Universidad Nacional Mayor de San Marcos [Internet]. 2011 [citado 27 de junio de 2023]

30. Churata-Oroya DE, Ramos-Perfecto D, Moromi-Nakata H, Martínez-Cadillo E, Castro-Luna A, Garcia-de-la-Guarda R. Efecto antifúngico de Citrus paradisi "toronja" sobre cepas de Candida albicans aisladas de pacientes con estomatitis subprotésica. Revista Estomatológica Herediana [Internet]. abril de 2016 [citado 27 de junio de 2023];26(2):78-84.

31. Tapia Manrique ER. Composición química, actividad antioxidante y antiCandida albicans del aceite esencial de Clinopodium pulchellum (Kunth) Govaerts "panizara". Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 2018. 27 de junio de 2023

32. Garrote Gutierrez VH. Efecto antifúngico – in vitro - del aceite esencial de Origanum vulgare (orégano) sobre Candida albicans ATCC 90028. Repositorio de Tesis - UNMSM [Internet]. 2019 [citado 27 de junio de 2023]

33. Lopes, J. P., & Lionakis, M. S. (2022). Pathogenesis and virulence of Candidaalbicans.Virulence,13(1),89–121.

34. Wolfgang Bengel. Candidiasis orales, parte 1: Caudro clinico, epidemiológico y etiologia. Quintessence. 2009;60(7):789.96

35. Avila Sosa R., Navarro Cruz A., Vera Lopez O., Davila Marquez R., Melgoza Palma N., Meza Pluma R. Romero(rosmarinus officinalis L.): uma revision de sus usos no

culinários. Facultad de Ciencias Químicas, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Mexico. 22 de octubre 2012.

36. Tsvetanova, F.; Vicente, G.; Fornari, Tiziana. Recuperacion de ácido rosmarínico apartir de plantas de la familia Lamiaceae. Instituo de investogacion en ciencias de alimentación de la UAM. España. CIAL 2014

37. Otero Rey E., Peñamaría Mallón M., Rodríguez Piñón M., Martín Biedma B., Blanco Carrión A.. Candidiasis oral en el paciente mayor. Av Odontoestomatol [Internet]. 2015 Jun [citado 2024 Feb 11] ; 31(3): 135-148.

38. Azcona Barbed. Farmaceutica comunitaria de Biskaia. Master em cosmética y dermofarmacia. Elsevier.Junio 2023;17(6):78-83

39. Algunas consideraciones sobre Candida Albicans como agente etiológico de candidiasis bucal. Acta odontol. venez [Internet]. 2002 Ene [citado 2024Feb11];40(1):9-17.

40. Ministerio de salud. Guía de práctica clínica para el diagnostico y tratamiento de la Micosis oral. Departamento de Neonatología. Perú. 2023

41. Olsen Verme Palomino, Palomino Escalante Fiorella y Regal Ludowieg Michelle. Candidemia en 15 Hospitales del Perú 2017-2019. Tesis de Pregrado. Universidad Cayetano Heredia. 2020.

X. ANEXO

Anexo 01

Constancia de la clasificación taxonómica de la *Salvia rosmarinus* (Romero)



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)
MUSEO DE HISTORIA NATURAL

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

CONSTANCIA N° 164-USM-MHN-2023

LA JEFA DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (fértil) recibida de **Marco Antonio Paucar Valentin,** egresado de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos ha sido estudiada y clasificada como: *Salvia rosmarinus* Schleid. y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación APG IV (2016).

ORDEN : Lamiales

FAMILIA : LAMIACEAE

GÉNERO : *Salvia*

ESPECIE : *Salvia rosmarinus* Schleid.

Nombre vulgar: "romero"

Procedencia: Huancayo - Junín

Determinado por: MSc. Hamilton Beltrán Santiago.

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

Lima, 18 de julio de 2023

MUSEO DE HISTORIA NATURAL - Herbario San Marcos - USM
JEFE

Dra. Joaquina Albán Castillo
JEFA DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)

Anexo 02

Instrumento para la recolección de datos

PLACAS	SOLUCIONES						
	1	2	3	4	5	6	7
Salvia rosmarinus (Romero)	100%	50%	25%	12.5%	6.25%	DMSO	Nistatina
	DIAMETROS DE HALOS DE INHIBICIÓN en Milímetros (mm)						
1	7.52	5.2	6.17	6.64	7.81	0	16.35
2	10.1	9.72	9.62	7.83	9.25	0	17.43
3	12.70	7.40	9.55	11.13	13.10	0	14.92
4	14.06	13.34	12.57	11.31	9.95	0	15.25
5	13.10	10.15	11.46	8.12	7.89	0	12.30
6	10.55	6.50	6.78	5.50	7.36	0	12.30
7	8.34	10.07	6.68	6.65	6.71	0	15.98
8	14.97	13.54	13.42	13.30	12.50	0	19.12
9	15.57	11.07	10.29	13.24	12.30	0	19.95
10	16.03	16.02	14.96	12.21	10.49	0	18.10

Anexo 03

Ficha técnica de la cepa de *Candida albicans*



Microbiologics

Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

Specifications
Microorganism Name: Candida albicans
Catalog Number: 0443
Lot Number: 443-1401**
Reference Number: ATCC® 10231™*
Passage from Reference: 3

Expiration Date: 2024/5/31
Release Information:
Quality Control Technologist: Madison C Vogt
Release Date: 2022/7/18

Performance

Macroscopic Features:
Small to medium, white, circular, convex, dull colonies.
Microscopic Features:
Gram positive, ovoidal, budding yeast cells.

Medium:
Nutrient
Method:
Gram Stain (1)

ID System: MALDI-TOF (1)
See attached ID System results document.

Other Features/ Challenges: Results
(1) Germ Tube Test: positive
(1) Chlamydospore production: positive

Amanda Kuperus
Director of Quality Control
AUTHORIZED SIGNATURE

**Disclaimer: The last digit(s) of the lot number appearing on the product label and packing slip are merely a packaging event number. The lot number displayed on this certificate is the actual base lot number.

Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information.

Individual products are traceable to a recognized culture collection.

ACCREDITED
REFERENCE MATERIAL PRODUCER
(CERT #2653.01)

ATCC Licensed Derivative

The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC. Microbiologics, Inc. is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures.

(1) These tests are accredited to ISO/IEC 17025.

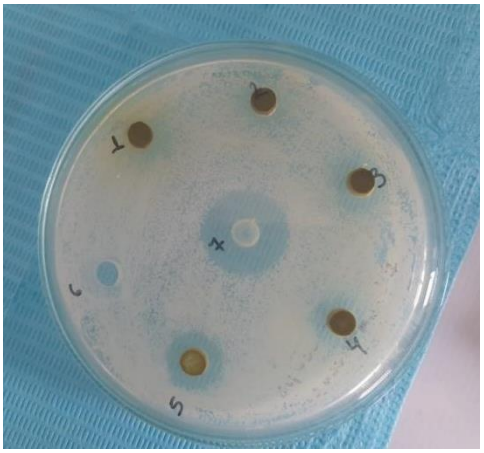
ACCREDITED
TESTING CERT #2653.01

Anexo 04

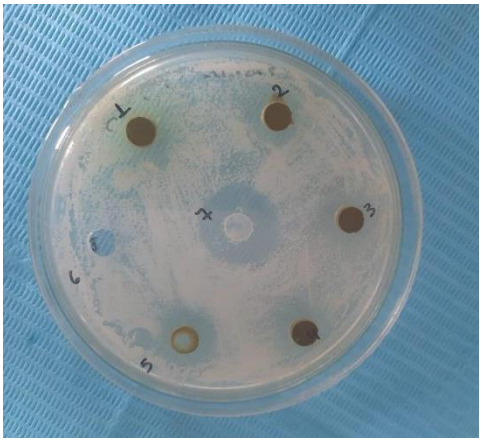
Fotografías

Figura 08. Muestra 10 placas petri con la presencia de los halos de inhibición, sus diferentes concentraciones del Romero, control positivo y negativo

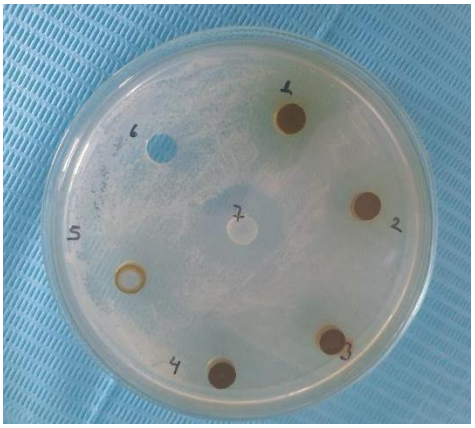
1



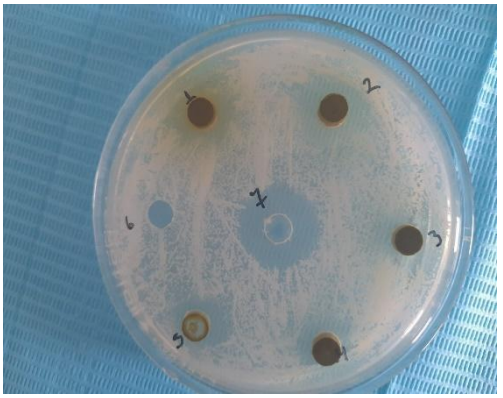
2



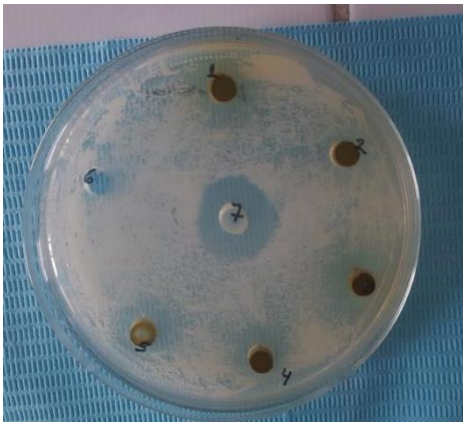
3



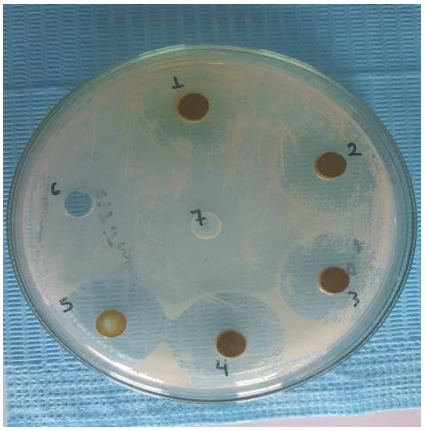
4



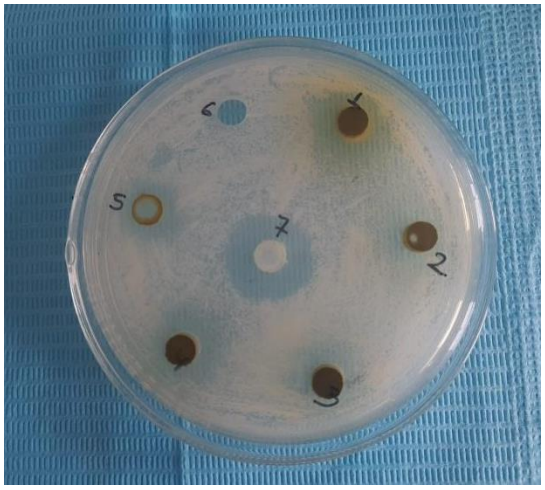
5



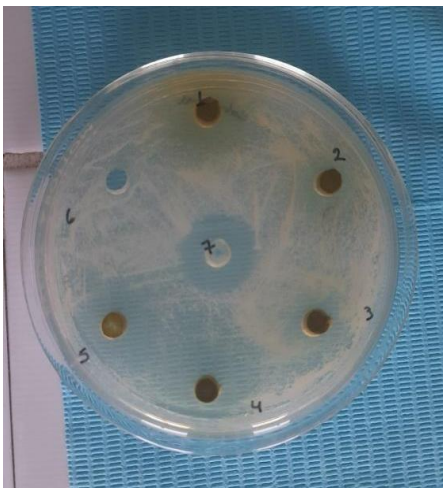
6



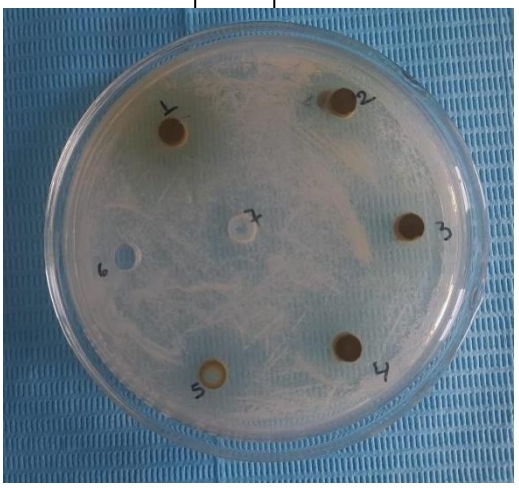
7



8



9



10

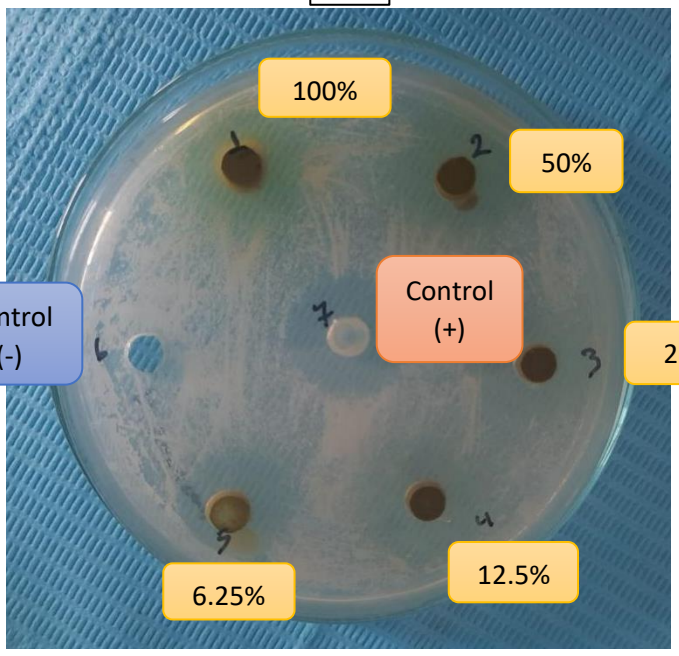


Figura 9. Cepa de *Candida albicans* ATCC 10231



Figura 10. Control positivo de Nistatina 100000 ul/l (a) y control negativo de Dimetilsulfóxido (b)

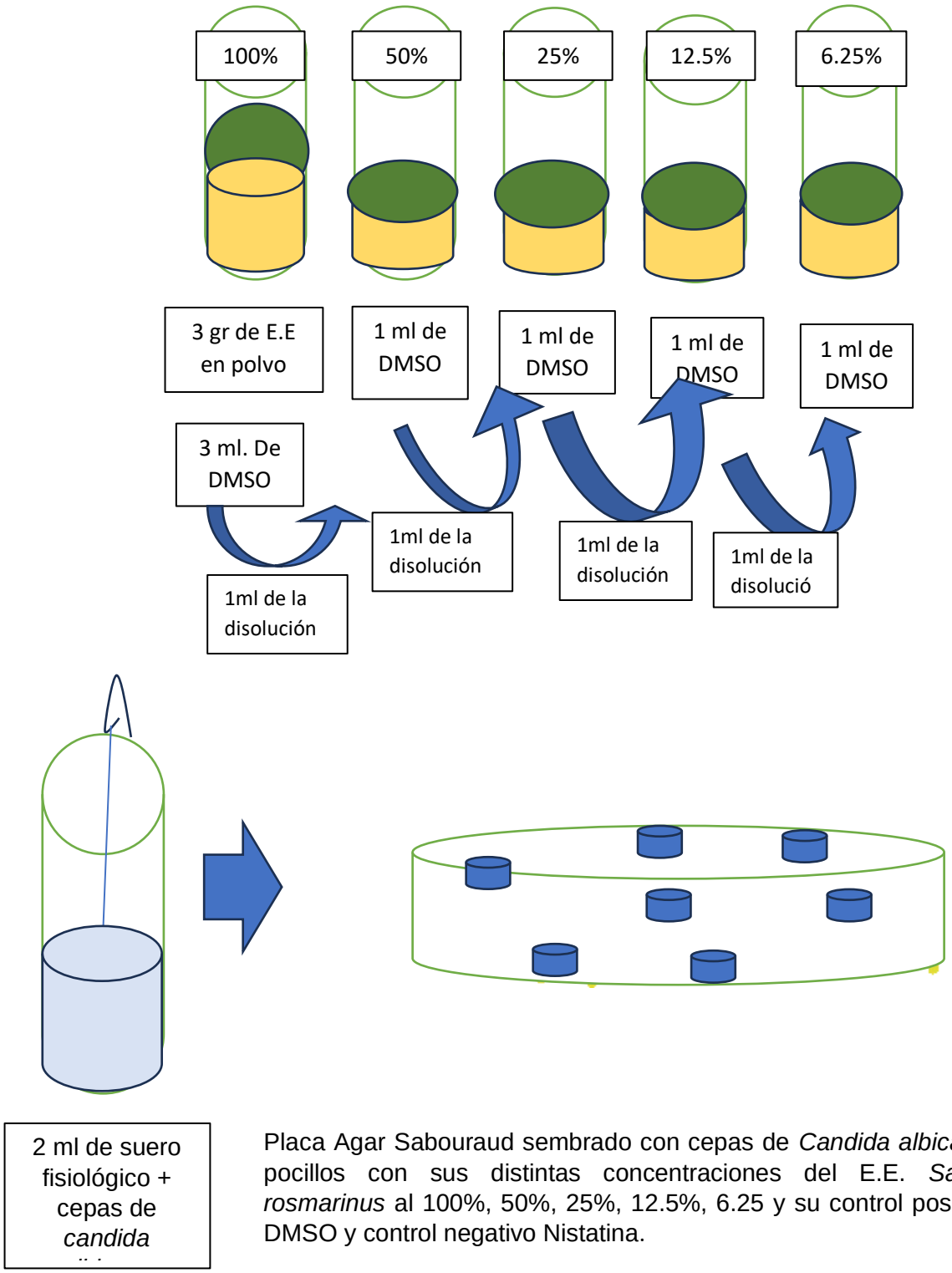
a



b



Figura 11. Procedimiento para la elaboración de las distintas concentraciones de los E.E de Romero y su proceso de cultivo de la *Candida albicans* en Agar Sabouraud.



Placa Agar Sabouraud sembrado con cepas de *Candida albicans*, pocillos con sus distintas concentraciones del E.E. *Salvia rosmarinus* al 100%, 50%, 25%, 12.5%, 6.25 y su control positivo DMSO y control negativo Nistatina.

ANEXO 05

Tabla 08. Shapiro-Wilk para prueba de Normalidad del Extracto etanólico de *Salvia rosmarinus.*

Pruebas de normalidad						
	Kolmogorov-Smirnov			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Extracto etanólico de *Salvia rosmarinus* 100%	0,153	10	0,200*	0,933	10	0 ,481
Extracto etanólico de *Salvia rosmarinus* 50%	0,132	10	,200*	0,971	10	0,897
Extracto etanólico de *Salvia rosmarinus* 25%	0,169	10	0,200*	0,944	10	0,604
Extracto etanólico de *Salvia rosmarinus* 12.5%	0,198	10	0,200*	0,895	10	0,191
Extracto etanólico de *Salvia rosmarinus* 6.25%	0,187	10	0,200*	0,920	10	0,358
Nistatina	0,150	10	0,200*	0,972	10	0,912
DMSO	.	10	.	.	10	.

ANEXO 06

Tabla 09. Anova de medida repetida para muestras pareadas.

ANOVA DE MEDIDAS REPETIDAS: PRUEBAS MULTIVARIANTES		
Actividad antifúngica	**Estadísticos multivariados**	**Significancia (p)**
Halo inhibitorio en cepas de *Candida albicans*	Traza de Pillai	0,001
	Lambda de Wilks	0,001
	Traza de Hotelling	0,001
	Raíz mayor de Roy	0,001