

**UNIVERSIDAD INTERAMERICANA PARA EL
DESARROLLO**



**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
CARRERA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA**

**Efecto antifúngico in vitro del extracto etanólico de las hojas de la
Mentha spicata (hierba buena) contra cultivos de *Cándida
albicans***

AUTORES Huanca Camargo Juddit Yocelin
Jaimes Zacarías Pirony Fernando
Ávila Parco José

LIMA – PERÚ

2018

DEDICATORIA

A mi familia por su apoyo y estímulo constante a seguir adelante y ser persona y profesional de bien.

Juddit

A mi familia por el apoyo incondicional que me brindan en la formación de mi carrera universitaria y por la confianza que depositan en mí, motivo por el cual me esfuerzo a diario para ser un profesional de provecho y de bien.

Pirony

AGRADECIMIENTO

A nuestra Universidad Interamericana para el Desarrollo, Facultad Ciencias de la Salud, por darnos la oportunidad de llevar a cabo nuestro proyecto.

Juddit

A dios por habernos dado sabiduría, constancia, fortaleza, salud y no dejarnos solos ante obstáculos y por permitirnos alcanzar nuestras metas en este proyecto para el curso de seminario de investigación.

Pirony

ÍNDICE GENERAL

	Pág
Portada	
Dedicatoria	
Agradecimiento	
Índice general	
Resumen	
Abstract	
Introducción	8
CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	10
1.1. Descripción de la realidad problemática	10
1.2. Formulación del Problemas	11
1.2.1. Problema general	11
1.2.2. Problemas específicos	11
1.3. Objetivos	12
1.3.1. Objetivo general	12
1.3.2. Objetivos específicos	12
1.4. Justificación	12
CAPÍTULO II: FUNDAMENTOS TEÓRICOS	13
2.1. Antecedentes	13
2.1.1. Antecedentes Nacionales	13
2.1.2. Antecedentes Internacionales	14
2.2. Bases teóricas	15
2.3. Marco conceptual	25
2.4. Hipótesis y Variables	28

2.4.1. Hipótesis general	28
2.4.2. Hipótesis específicas	28
2.4.3. Operacionalización de variables e indicadores	28
CAPÍTULO III: MÉTODODOLOGÍA	20
3.1. Tipo y diseño de investigación	30
3.2. Población y muestra	30
3.3. Técnicas e instrumentos de recolección de datos	30
3.4. Técnicas de procesamiento y análisis de datos	30
CAPÍTULO IV: PRESENTACIÓN Y ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS	31
4.1. Presentación de resultados	31
4.2. Discusión	32
CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	34
5.1. Conclusiones	34
5.2. Recomendaciones	34
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	35
ANEXOS	39
Anexo 1. Testimonios fotográficos	39

RESUMEN

El objetivo principal del presente trabajo fue determinar el efecto antifúngico del extracto etanólico de la *Mentha spicata* (hierba buena) contra cultivos de *Cándida albicans*. Las hojas de la *Mentha spicata* fue recolectada en el departamento de Ancash. El efecto antifúngico se evaluó mediante el método de difusión en agar frente a *Candida albicans* ATCC 10231, la temperatura de incubación fue de 37 °C. Resultados, los diámetro de halos de inhibición del extracto etanólico de *Mentha spicata* según las diferentes concentraciones evaluadas fueron; para 15% (9.8mm), 25% (12.7mm), 35% (15.6mm), 50% (14.5mm), 65% (11.4mm), 85% (24.8mm) y 100% (19.8m); de todas las diluciones del extracto etanólico, la concentración del 85 % del extracto tuvo la mayor concentración inhibitoria contra *Candida albicans*. Se concluye que el extracto etanólico de *Mentha spicata* presentó efecto antifúngico importante frente a *Cándida albicans*.

Palabras clave: Antifúngico, *Mentha spicata*, *Candida albicans*.

ABSTRACT

The main objective of this work was to determine the antifungal effect of the ethanolic extract of *Mentha spicata* (good grass) against crops of *Candida albicans*. The leaves of the *Mentha spicata* were collected in the department of Ancash. The antifungal effect was evaluated by the agar diffusion method against *Candida albicans* ATCC 10231, the incubation temperature was 37 ° C. Results, the halos diameter of inhibition of the ethanolic extract of *Mentha spicata* according to the different concentrations evaluated were; for 15% (9.8mm), 25% (12.7mm), 35% (15.6mm), 50% (14.5mm), 65% (11.4mm), 85% (24.8mm) and 100% (19.8m); Of all the dilutions of the ethanolic extract, the concentration of 85% of the extract had the highest inhibitory concentration against *Candida albicans*. It is concluded that the ethanolic extract of *Mentha spicata* had an important antifungal effect against *Candida albicans*.

Key words: Antifungal, *Mentha spicata*, *Candida albicans*.

INTRODUCCION

La candidiasis causada por *Candida albicans* es una patología infecciosa de prevalencia alta en la población, este hecho motivo realizar el, el presente trabajo de investigación, el cual se evaluó in vitro una alternativa terapéutica natural.

Con el fin de prevenir infecciones por *Cándida albicans*, en la actualidad la comunidad científica está desarrollando aceites esenciales, debido a las propiedades antifúngicas, su baja toxicidad y biodegradabilidad. Además, las especies de Cándida son actualmente la causa más común de infecciones por hongos en todo el mundo, siendo el patógeno fúngico más frecuente. Entre los factores de virulencia de *Cándida albicans* está la producción de adhesinas e invasinas, que median la adhesión e invasión de células huésped, la secreción de enzimas hidrolíticas, la transición de levadura a hifa, la detección de contacto, el tigmotropismo, la formación de biopelículas, conmutación fenotípica y adaptación metabólica.

El interés por el uso de productos naturales derivados de plantas medicinales está en aumento en diferentes enfermedades como los agentes antifúngicos, por el aumento de la resistencia de los fármacos disponibles frente a *Cándida albicans*, se ha reportado que la mortalidad de la candidemia es del 25-60% ⁽¹⁾.

La *Menta spicata* es una planta cultivada en diversas partes del mundo, es nativa de Europa. Sus hojas y ramas son las partes empleadas con fines terapéuticos. Su aceite esencial tiene como un componente activo principal a la carvona; además presenta otros compuestos como el limoneno, mentona y mentol. Se le atribuye propiedades carminativas y antiespasmódicas sobre el aparato digestivo, antiséptico y antiinflamatorio en el sistema respiratorio y antiséptico aplicado en la piel y mucosas. Otras propiedades que se le atribuyen son: estimulante, cardiovascular, antidismenorreica.

Desde los tiempos más remotos, todas las sociedades han recurrido a las plantas medicinales como fuente de tratamiento de enfermedades. En la actualidad, según reporte de la Organización Mundial de la Salud (OMS), el 80% de la población en general en todo el mundo recurre a la medicina tradicional para aliviar sus necesidades primarias de atención médica. La medicina tradicional se basa en especial del uso de componentes activos obtenidos en diversos extractos a partir de variadas especies vegetales ⁽²⁾.

En las plantas encontramos diversas variedades metabolitos secundarios, como las fitoalexinas y fitoanticipinas, que usan como medio de defensa frente a infecciones por agentes fitopatógenos, entre ellos los hongos ⁽³⁾.

La medicina tradicional ha hecho uso de muchos diferentes extractos de plantas para tratar infecciones fúngicas y muchas de estas plantas han sido evaluadas por su acción in vitro ⁽⁴⁾.

Basado en el conocimiento que las plantas desarrollan sus propias defensas contra patógenos fúngicos ellos parecen ser una interesante fuente para compuestos antifúngicos ⁽⁵⁾.

En Brasil fueron estudiados 20 plantas que popularmente han sido usadas por sus propiedades antifúngicas frente a *Candida albicans* y *Cryptococcus neoformans*. De los veinte extractos metanólicos evaluados, los más activos frente a *Cándida albicans* (CMI 1,25 mg/dL) fueron *Occinum gratissimum*, *Schinus terebintifolius*, *Cajanus cajan*, y *Piper aduncum*, así mismo la especie *Bixa orellana*, *O. gratissimum*, y *Syzygium cumini* mostraron buena actividad frente a *C. neoformans* (CMI de 0.078 mg/ml) ⁽⁶⁾.

Por otro lado, sabiendo que las biopelículas de *Candida*, representan un problema adicional, también hay estudios que evalúan la actividad de varias plantas contra las biopelículas, entre las que se pueden mencionar a extractos de *Allium sativum*, *Cassia spectabilis*; frutos de *Caesalpinia ferrea*; aceites esenciales de *Croton cajucara Benth* ricos en linalol, *Ocimum americanum L.* y *Cinnamomum zeylanicum* ⁽⁷⁾.

CAPITULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1. Descripción de la realidad del problema

Con el objetivo de motivar la investigación de nuestra medicina natural en especial las derivadas de la flora tradicional peruana, se realizó el estudio de la *Mentha spicata* (hierbabuena) en relación al efecto antifúngico frente a *Candida albicans*.

La atención primaria de salud es el centro del sistema de bienestar de las naciones y contribuye en forma integral en el desarrollo socioeconómico de las distintas comunidades; dentro de la asistencia sanitaria primaria, se ubica de manera preferente la atención a las enfermedades ginecológicas, siendo las vulvovaginitis las de mayor prevalencia en las pacientes de 20 a 30 años. El agente etiológico involucrado en forma frecuente es el hongo *Candida albicans*, que es un componente de la micro flora vaginal normal, existe como agente comensal; sin embargo, por ser un hongo oportunista, suele proliferar y causar infección, motivo que ha emergido como un microorganismo con alta patogenia en especial en pacientes inmunosuprimidos; la infección puede progresar en forma sistémica y afectar a variados órganos internos ⁽⁸⁾.

La forma microscópica de las especies del género *Candida* es semejante para todas las levaduras Gram positivas, en algunos casos la forma de blastosporas puede variar a ovoide, alongada o esférica. Visto al microscopio *C. albicans* suele presentar dimorfismo, es decir que implica la transformación de su forma habitual de levadura a hifa.

El incremento considerable de pacientes inmunocomprometidos, pacientes que reciben quimioterapia, cirugía de transplante, nutrición parenteral y el uso frecuente de agentes antimicrobianos de amplio espectro, que sumados a la presencia de la enfermedad del SIDA, originan verdaderas

"placas petri vivientes" individuales, quienes son altamente susceptibles a infecciones oportunistas. Las infecciones por hongos a nivel sistémico y dérmico constituyen causa de amplia morbi-mortalidad en estos tipos de pacientes, la enfermedad de dermatomicosis un problema de salud muy serio para niños de países en vías de desarrollo como consecuencia de cuidado sanitario deficiente ⁽⁹⁾.

En la actualidad los fármacos disponibles, tienen toxicidad importante, suelen producir recurrencia o causar resistencia, por ello se requiere nuevas moléculas como agentes antifúngicos con mayor eficiencia y sobretodo con mayor seguridad que los existentes a la fecha. Desafortunadamente, las células de los hongos comparados con el humano no son muy diferentes, comparten gran parte de las rutas metabólicas intermedias, usan enzimas muy parecidas el cual dificulta hallar blancos con alta selectividad que debe poseer un agente antifúngico ⁽¹⁰⁾.

1.2. Formulación del problema

1.2.1. Problema general

1. ¿El extracto etanólico de las hojas de *Mentha spicata* (hierba buena) tendrá efecto antifúngico contra cultivos de *Cándida albicans*?

1.2.2. Problemas específicos

1. ¿Cuál será el porcentaje de inhibición del extracto etanólico de las hojas de *Mentha spicata* (hierba buena) que tendrá efecto antifúngico contra cultivos de *Cándida albicans*?

2. ¿Cuál será la dosis porcentual que tendrá mayor efecto antifúngico del extracto etanólico de las hojas de *Mentha spicata* (hierba buena) contra cultivos de *Cándida albicans*?

1.3. Objetivos de la investigación

1.3.1. Objetivo general

1. Determinar el efecto antifúngico del extracto etanolito de las hojas de *Mentha spicata* (hierba buena) contra cultivos de *Cándida albicans*.

1.3.2. Objetivos específicos

1. Determinar el porcentaje de inhibición del extracto etanólico de las hojas de *Mentha spicata* (hierba buena) contra cultivos de *Cándida albicans*.
2. Determinar la dosis porcentual que tiene mayor efecto antifúngico del extracto etanolico de *Mentha spicata* (hierba buena) contra cultivos de *Cándida albicans*.

1.4. Justificación

Sabemos que, actualmente, la industria farmacéutica usa principios activos provenientes de síntesis química, las mencionadas moléculas generan efectos secundarios moderados y en algunos casos severos, trayendo como consecuencia secuelas que en el peor de los casos pueden ser irreversibles, ante esta realidad es necesario dar a conocer las propiedades y beneficios de los productos de procedencia vegetal, que en su medida disminuye la aparición de efectos adversos y es mejor asimilable.

Este trabajo permite conocer que la hierbabuena tiene actividad antimicótica in vitro contra cultivos *Cándida albicans*; contribuyendo con nuevas alternativas terapéuticas naturales para combatir las diversas afecciones micóticas en los seres vivos.

CAPÍTULO II: FUNDAMENTOS TEÓRICOS

2.1. Antecedentes de la investigación

2.1.1. Antecedentes Nacionales

Vásquez C. ⁽¹²⁾ 2016. Realizaron el estudio “efecto antifúngico de *Citrus paradisi* (toronja) sobre cepas de *Cándida albicans* aisladas de pacientes con estomatitis subprotésica”. Nos dice que, emplearon el método de difusión en agar con pozos para evaluar la sensibilidad antifúngica contra *Cándida albicans*. Obtuvieron la muestra mediante hisopado de mucosa de pacientes con estomatitis subprotésica, identificaron mediante características morfológicas de las colonias y prueba de tubo germinativo. Estandarizaron el inóculo al 0,5 de la escala de Mc Farland y sembraron en 12 placas con agar dextrosa sabouraud. Realizaron pozos con un sacabocado de 6 mm de diámetro, depositaron 50 µL de las diversas concentraciones del aceite esencial y procedieron a incubar en aerobiosis a 37 °C durante 48 horas. Hallaron que el aceite esencial de *Citrus paradisi* “toronja”, presentó actividad antifúngica frente a *Candida albicans*.

Espinoza R. ⁽¹³⁾ 2015. Realizó el estudio “efecto antifúngico in vitro del extracto etanólico de *Prosopis pallida* (algarrobo) sobre *Cándida albicans* ATCC 90028”. Nos dice que, prepararon diversas concentraciones; 2.5, 5, 7.5, 10, 12.5, 15, 17.5, 20, 22.5, 25 mg/ml del extracto, como control usaron a la Nistatina, el control negativo fue con Solución Salina Fisiológica. Usaron el método de difusión en disco, sembraron por dispersión en superficie con hisopo estéril el inóculo fúngico de *Cándida albicans* sobre la superficie de placas de petri con agar Saboraud. Seguidamente colocaron discos de sensibilidad embebidos con las concentraciones del extracto y los controles. Incubaron cada placa a 37°C durante 24 horas en condiciones de aerobiosis. Los pruebas fueron realizadas por

decuplicado y en cuatro repeticiones. Hallaron que la mayor inhibición fue con concentración de 22.5 mg/ml y 25 mg/ml con halos promedio de inhibición de 12.9 y 11.5 mm respectivamente, el menor promedio de halos de inhibición fue con las concentraciones de 2.5 mg/ml y 5 mg/ml respectivamente. Concluyen que con mayor concentración del extracto existe mayor efecto antifúngico.

Flores K. ⁽¹⁴⁾ 2017. Realizaron el estudio “actividad antifúngica in vitro de aceite esencial y extracto alcohólico de *Mentha piperita* “hierba buena” sobre *Cándida albicans* cepa ATCC 10231”. Nos dice, que usaron el método de difusión en disco (Método Kirby Bauer) para la determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI), expusieron *Candida albicans* a cinco concentraciones del extracto, usaron dos grupo control, uno con fluconazol y otro con suero fisiológico; realizaron 10 repeticiones en cada caso. Hallaron que extracto en estudio mostró presentar efecto sobre *Cándida albicans* según las condiciones experimentales.

2.1.2. Antecedentes Internacionales

Córdova I, et al. ⁽¹⁵⁾ 2016. Realizaron el estudio “actividad antibacteriana y antifúngica de un extracto de *Salvia apiana* frente a microorganismos de importancia clínica”. Refieren que, usaron la raíz de *Salvia apiana* y prepararon el extracto hexánico, luego prepararon diversas concentraciones: 27; 13,5; 6,8 y 3,4 mg/ml. Hallaron que inhibieron el crecimiento de *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Enterococcus faecalis* y *Candida albicans*. Así mismo hallaron que no presentó efecto significativo sobre *Escherichia coli* y *Candida tropicalis* al compararse con el grupo control en el ensayo de difusión en pozo. Demostraron que *S. apiana* tiene un

efecto antimicrobiano significativo frente a patógenos gran interés clínico.

Velásquez V. ⁽¹⁶⁾ 2011. Realizaron el estudio “evaluación del efecto bactericida en *Campylobacter jejuni*, de extractos de *Equisetum giganteum*, *Mentha spicata*, *Litsea guatemalensis*, *Thymus vulgaris*, *Apium graveolens* e *Hibiscus sabdariffa*, Guatemala. Refieren que, realizaron la técnica de difusión en agar para el ensayo antibacteriano, usaron aceites y extractos etanólicos de las plantas, las cuales empaparon los discos y colocaron sobre agar Columbia-Sangre. Usaron la eritromicina como fármaco de referencia. Hallaron que ninguna de las plantas empleadas en este estudio inhibe el crecimiento de *C. jejuni*.

2.2. BASES TEORICAS

2.2.1. Hongos

Tienen una distribución mundial y crecen en diferentes variedades de hábitats, incluyendo los ambientes extremos. Se han descrito alrededor de 100,000 especies de hongos, pero la biodiversidad del reino Fungi aún no se conoce totalmente. Los hongos son un grupo de microorganismos eucariotas, incluyen a las levaduras, los mohos, así como las setas (macromicetos). Son productores de esporas, y su reproducción puede ser sexual y/o asexual. Los hongos que presentan crecimiento levaduriforme generalmente dan lugar a colonias lisas en medios de cultivo sólido, las cuales son agregados de células individuales a los que se les denomina levaduras. Existen alrededor de 1,500 especies de levaduras descritas. La mayoría se reproduce asexualmente por gemación, sin embargo, algunas lo realizan por fisión binaria. Aunque son microorganismos unicelulares, algunas especies pueden ser multicelulares por medio de formación de pseudohifas. El tamaño de la levadura varía entre especies,

típicamente miden de 3 a 4 μm de diámetro, pero puede haber algunas especies que alcancen los 40 μm ⁽¹⁷⁾.

2.2.1.2. *Candida albicans*

Es un tipo de hongo dimorfo, se presenta de forma largas pseudohifas, hifas y blastoconidios (células gemantes subesféricas de 3-8 x 2-7 μm). Tienen la capacidad de asimilar y fermentar azúcares. Las colonias tienen crecimiento rápido, de forma circular, lisas, de color blanco o cremoso, de consistencias pastosas y blandas, de bordes precisos, centro ligeramente prominente, con olor a levadura. Es una variedad de hongo muy frecuente y que se vuelve patogénico por varios factores predisponentes y tiene comportamiento aerobio. Al menos uno de cada dos pacientes portadores de prótesis dental tiene *Cándida albicans*, generalmente es saprófito e inofensivo, habita normalmente en la cavidad bucal, en el tracto intestinal y en la cavidad vaginal en las mujeres. La candidiasis por lo general se presenta en pacientes adultos mayores, inmunodeprimidos o por factores locales como deficiencia de higiene, mal estado protésico, traumatismos físico químicos, se presenta en forma de manchas blancas que suelen desprenderse quedando una superficie sangrante o rojiza, la candidiasis en cavidad bucal puede considerarse como la enfermedad del paciente enfermo, ya que necesita de otros factores asociados para que esta se presente. La candidiasis generalmente no es una enfermedad letal, aunque si puede ser muy molesta para el paciente, suele manifestarse con incomodidad y dolor para consumir los alimentos, impidiendo la correcta ingesta de alimento, lo que podría ser fatal en pacientes que necesitan una ingesta hipercalórico como en los casos de pacientes con VIH ⁽¹⁸⁾.

a. Descripción taxonómica de *Cándida albicans*

Su descripción taxonómica es la siguiente:

Reino: Fungi

División: Deuteromycota

Clase: Blastomycetes

Orden: Pseudosaccharomycetales

Familia: Cryptococcaceae

Género: Candida

Especie: albicans

b. Composición química

El hongo de *Candida albicans* contiene de manera general de 20-40% de proteínas, 30-50% de polisacáridos, la proporción de lípidos es variable. La porción lipídica depende de la cepa, edad del cultivo, condiciones ambientales y origen de la fuente de carbono. La pared celular se encuentra compuesta preferentemente por polisacáridos glucano, manán y quitina. La síntesis de los constituyentes de la pared celular está dinámicamente influenciada por las condiciones de crecimiento y por los estadios metabólicos. El polisacárido tipo manán representa aproximadamente de 15,2% a 22,9% del peso seco y poco más del 40% de los polisacáridos presentes en la pared celular del hongo. El D-Glucano β -1,3 y el D-Glucano β -1,6 constituyen entre 47% y 60% del peso seco de la pared celular. Otros componentes han sido reportados, tales como proteínas

comprendidas entre 6% y 25%, lípidos de 1% a 7% y quitina entre 0,6% y 9% del peso de la pared celular. Su morfología y número de capas varían; el cual se relaciona con variados factores como: la etapa de crecimiento celular, forma de crecimiento (como levadura o tubo germinal), capa seleccionada para su estudio, medio de cultivo para el crecimiento celular y procedimientos de fijación. La mayoría de los investigadores han descrito cinco capas dentro de la pared celular, las cuales son (de adentro hacia afuera): manoproteínas, β -glucano-quitina, β -glucano, manoproteínas y una capa de fibrillas ⁽¹⁹⁾.

c. Características de *Candida albicans*

Otras de las características es que se desarrolla de forma variada en función de la temperatura de crecimiento. Como levadura, lo hace normalmente a 37°C en el huésped, como hongo de característica filamentoso a 25°C en la naturaleza. Pertenece al filo Ascomycota y tiene reproducción en forma asexual por gemación. En forma de levadura su aspecto suele ser de células ovaladas o redondas, tamaño de 3-8 x 2-7 micras, se agrupan en pequeños grupos, en la forma de hongo filamentoso, las células se alargan y se diversifican tomando la apariencia de filamentos, pseudo-hifas o pseudo-micelio ⁽²⁰⁾.

d. Ecología

La temperatura en la cual suele crecer es de 37 °C por lo se relaciona con seres de sangre caliente. En los seres humanos, los lugares que usualmente se encuentran presentes son; el tracto digestivo y respiratorio, la mucosa genital (vagina) y pueden originar candidiasis endógenas. En estas partes del organismo se

comporta como un saprobio y su aislamiento no implica por sí mismo la presencia de una infección. En superficies secas no sobrevive durante mucho tiempo pero su supervivencia aumenta cuando existe humedad se ha aislado de cepillos dentales, cremas de manos, cosméticos y ropa ⁽¹⁹⁾.

Para poder sobrevivir requiere de humedad, por tanto abundan en mucosas que son sus zonas de preferencia, además de la piel y las uñas. Por esta razón, es habitual, encontrarlos en los cepillos dentales, cremas de mano, cosméticos o ropa. Para poder multiplicarse requiere sobre todo de carbohidratos simples. Así, las personas que padecen de alguna candidiasis suelen sentir la necesidad de consumir muchos dulces ⁽²¹⁾.

La Candidiasis suele contagiarse con facilidad, se transmite por contacto sexual, por medio de las manos o diversos objetos. Así mismo se ha observado transmisión vertical; es decir, que pasa de madres a hijos, si durante el parto la madre sufre candidiasis genital. Otra característica es que lesiona rápidamente los tejidos y células que invade.

e. Tipos de Candidiasis:

Candidiasis genital: Es una de las infecciones frecuentes, ataca a la mucosa de la vagina y/o al endometrio del útero, ocasiona la presencia de flujo espeso y color blanquecino, suele aparecer enrojecimiento, sensación de quemazón e hipersensibilidad. Debido a cambios hormonales frecuente aparecer en el período de gestación y en la diabetes gestacional. El uso de anticonceptivos hormonales orales favorece la infección. Esta forma de infección suele transmitir al bebé durante el período de parto. Cabe

mencionar que al menos el 75% de mujeres padecen de un episodio de candidiasis vulvovaginal en su vida. De éstas población el 5% suele padecer de manera continua más de 4 candidiasis vulvovaginales durante el año. Este tipo de candidiasis se presenta también en los genitales masculinos.

Candidiasis oral: Se presenta de color blanco rosado en forma de manchas sobre la lengua, mucosa oral, encías o en forma de comezón en los labios. Puede aparecer de manera asintomática o presentar dolor, mal sabor, ardor de boca. Algunas veces, puede causar grietas, hendiduras y úlceras.

Candidiasis esofágica: Se presenta en la parte profunda de la garganta. Los síntomas suelen ser dolor pectoral y problemas para deglutir.

Onicomycosis o infección en uñas: La infección se manifiesta por lesión, se observa incremento en el grosor y opacidad de la uña. Además puede `provoca supuración y dolor.

Candidiasis urinaria: Los órganos más afectados son la uretra y la vejiga, así también puede afectar al riñón. El principal origen suele ser los catéteres (en especial los pacientes en diálisis), los pacientes con tratamientos con esteroides o pacientes con diabetes mellitus (las alteraciones en el metabolismo de la glucosa pueden favorecer el crecimiento de este tipo de hongo).

Candidiasis intestinal: Aumenta la proliferación de las levaduras que habitan en la luz intestinal. Los principales síntomas son diarrea o estreñimiento, hinchazón, indigestión, e intolerancias a variados alimentos. A nivel sistémico puede aparecer fatiga, depresión, pérdida de peso e irritabilidad ⁽²²⁾.

2.2.2. Metabolitos Secundarios:

Entre los metabolitos tenemos ⁽²³⁾.

- **Terpenos.** Tenemos a las pigmentos, hormonas o aceites esenciales.
- **Cumarinas.** Pertenecen a la familia de lactonas, se han identificado más de 1500 en más de 800 especies vegetales, que poseen actividad antimicrobiana e inhibidores de la germinación.
- **Flavonoides.** Son compuestos fitoquímicos, cuyo esqueleto carbonado contiene 15 carbonos ordenados en dos anillos aromáticos, están unidos por puente de tres carbonos, el cual ayuda a su clasificación, entre los principales tenemos a las antocianinas (pigmentos), isoflavonas, flavonas y flavonoles.
- **Lignina.** Polímero de alta ramificación de fenilpropanoides. Es la sustancia orgánica más abundante en las plantas después de la celulosa. A la celulosa y a los polisacáridos se unen por enlace covalente en la pared celular. Por ser insoluble en agua y a muchos solventes orgánicos, hace difícil su extracción sin degradarla.
- **Taninos.** Son un tipo de compuestos fenólicos poliméricos que tienen la propiedad de unirse a las proteínas para desnaturalizarla. El término tanino deriva de la antigua práctica de usar extractos de origen vegetal para convertir la piel animal en cuero (unión al colágeno, aumenta su resistencia al agua, calor y a microorganismos). Tenemos dos tipos de categorías: taninos condensados y los hidrolizables.
- **Saponinas.** Se suelen encontrar en forma de glicósidos esteroideos o bien como glicósidos triterpenos. Por tanto son

compuestos triterpenoides o esteroides, contienen en su estructura una o más moléculas de azúcar. Se pueden encontrar sin azúcar, es decir como agliconas, en este caso se denominan saponinas. Si se adiciona un grupo hidrofílico, es decir azúcar a un terpenoide hidrofóbico da lugar a las propiedades detergentes o surfactantes parecidos al jabón que presentan las saponinas⁽²³⁾.

- **Glicósidos cardiacos.** Los glicósidos cardiacos o cardenólidos son similares a las saponinas tipo esteroideas, poseen también propiedades detergentes, en su estructura química contiene una lactona. Se ubican en forma natural como glicósidos o de agliconas.
- **Glicósidos cianogénicos.** Presentan en su estructura nitrógeno, no son tóxicos por sí mismos, se degradan cuando la planta es aplastada el cual libera sustancias volátiles tóxicas como es el caso de cianuro de hidrógeno (HCN).
- **Glucosinolatos.** También conocido como glicósidos del aceite de mostaza, cuando son degradados desprenden sustancias volátiles responsables del olor, aroma y el gusto de condimentos parecido a la mostaza y vegetales como el brócoli, repollo o coliflor.
- **Alcaloides.** Pertenecen a una gran familia de más de 15.000 metabolitos secundarios que poseen en común: solubilidad en agua, contienen por lo menos un átomo de nitrógeno en su molécula y presentan propiedad biológica. La mayor parte son heterocíclicos, algunos son compuestos nitrogenados alifáticos (no cíclicos) como la colchicina o mescalina⁽²³⁾.

2.2.3. *Mentha spicata*

Es una hierba perenne, de rápido crecimiento, pertenece a la familia de las lamináceas. Se usan en gastronomía y perfumería por que presentan aroma intenso y fresco. Es nativa del Viejo Mundo, las hojas y ramas son las partes empleadas. El principio activo principal en su aceite esencial es el mentol (50-86 %), limoneno, mentona, felandreno. Posee propiedades antiespasmódicas y carminativas sobre el sistema digestivo, antiséptico y antiinflamatorio sobre el sistema respiratorio y antiséptico sobre la piel y mucosas. Otras propiedades son: antidismenorrea, estimulante, hipostenizante cardiovascular y antihipocondríaca ^(24,25).

a. Descripción Taxonómica

Reino	: Plantae
División	: Magnoliophyta
Clase	: Magnoliopsida
Orden	: Lamiales
Familia	: Lamiaceae
Subfamilia	: Nepetoideae
Género	: <i>Mentha</i>
Especie	: <i>Mentha spicata</i>

b. Contraindicaciones y efectos secundarios:

Las hojas de menta, se encuentran contraindicadas en pacientes con cálculos biliares. Aceite de menta: Dentro de las contraindicaciones

incluyen; obstrucción de los conductos biliares, inflamación de la vesícula biliar y daño severo del hígado. Las personas que padecen de cálculos biliares podrían experimentar cólicos debido al efecto colerético ^(26,27).

No se han registrado efectos secundarios en contra de la salud si la droga es administrada de manera adecuada y en las dosis terapéuticas establecidas.

El aceite volátil posee un débil potencial de sensibilización debido a su contenido de mentol. No se recomienda la administración si hay tendencia a reflujo gastroesofágico. Las preparaciones que contiene el aceite no deben ser aplicadas en el rostro de infantes o niños pequeños (particularmente en el área nasal). Debido a posibles espasmos de tipo bronquial, ataques de asma o inclusive, fallo respiratorio.

c. TOXICIDAD

El aceite de menta puede ser irritante y raramente ocasiona reacciones de hipersensibilidad. Las reacciones evidenciadas incluyen rash cutáneo eritematoso, cefalea, bradicardia, temblor muscular y ataxia. Además se ha reportado pirosis. Estas reacciones alérgicas han sido atribuidas al mentol. Preferible no usar durante más de 12 días seguidos porque puede causar daño al corazón. La aplicación de preparaciones que contengan mentol, en niños menores de 2 años, para el tratamiento del resfriado puede causar colapso ⁽²⁷⁾.

Tampoco usar en personas que presentan obstrucción en el tracto biliar, piedras en vejiga, colecistitis, hernia hiatal o daño severo en el hígado, ya que puede haber empeorar la enfermedad.

Se ha observado propiedad bloqueante de los canales de calcio en modelos pre clínico in vivo por lo que se debe usarse con precaución en individuos que utilizan agentes con la misma acción. Utilizar con extrema precaución en niños menores de 2 años, en mujeres gestantes o en estado de lactancia, en personas que están dentro de algún grupo de riesgo o que se encuentren tomando otros medicamentos en forma concomitante ni en pacientes con antecedentes de hipersensibilidad. Algunos efectos secundarios son: náuseas, vómitos e irritabilidad gastrointestinal, reacciones alérgicas (caracterizado por dermatitis, rubor y cefalea).

También se ha observado casos de lesiones cerebrales en ratas que ingirieron una sobredosis del aceite.

No se han reportado casos de envenenamiento. La dosis mínima letal de mentol está estimada en los 2g, sin embargo, algunos individuos han sobrevivido a dosis superiores a los 8-9g⁽²⁷⁾.

2.3. MARCO CONCEPTUAL

1. Micología: Área de la ciencia que se encarga de conocer y estudiar los hongos y todo lo concerniente a estos, tal como las formas que presentan y los modos de aparición y desarrollo, debido a que estos son considerados factores parasitarios, que se originan fundamentalmente en ambientes poco saludables. Los hongos son organismos vivos vitales para el equilibrio dentro de la naturaleza, debido a la capacidad que poseen de secar y absorber los químicos producidos por el material orgánico de desecho, convirtiéndolos en minerales o proteínas para ser consumidos por otros animales sin causar daño en la salud o el sistema digestivo. En el área médica la micología es la rama de la microbiología,

que tiene como finalidad el estudio de las patologías ocasionadas por hongos y las variedades de hongos que las causan ⁽²⁸⁾.

2. Antifúngicos: Son agentes farmacológicos que detienen el crecimiento de levaduras patógenas. La anfotericina B fue hasta 1990 el único fármaco disponible para el tratamiento de estas infecciones. Su espectro de actividad es bueno, pero su utilización se ve restringida por la importante toxicidad del fármaco. El uso de las formulaciones lipídicas ha permitido disminuir la toxicidad asociada al uso de anfotericina B. Los triazoles son fármacos seguros y eficaces en el tratamiento de muchas infecciones fúngicas. El fluconazol es muy bueno en la prevención y el tratamiento de las infecciones por *Cándida* y *Cryptococcus*, el itraconazol presenta buena actividad frente a *Cándida* y *Aspergillus*, y el voriconazol ha demostrado ser más eficaz que anfotericina B en el tratamiento de la infección por aspergilosis invasora ⁽³⁰⁾.

3. Micosis: Se define infecciones causadas por hongos. Casi todos los hongos patógenos son exógenos y sus hábitats naturales son agua, tierra y restos orgánicos. Las micosis que tienen la mayor incidencia, como la candidiosis y las dermatofitosis, son causadas por hongos que son parte del microbiota normal de las personas y adaptadas en grado sumo para sobrevivir en el hospedador humano ⁽³⁰⁾.

4. Tipos de micosis: Existen diferentes áreas de contaminación; superficiales, cutáneas, subcutáneas o sistémicas, que invaden órganos internos. Las micosis sistémicas pueden ser causadas por hongos endémicos que por lo regular son patógenos primarios, geográficamente restringidos, o provenir del ataque de patógenos oportunistas secundarios, de distribución muy amplia. Al agrupar a la micosis en las

categorías antes mencionadas muestra su puerta de entrada en el sitio inicial de ataque. Sin embargo, surgen enormes traslapes, porque las micosis generalizadas muestran manifestaciones subcutáneas y viceversa. Muchas personas que desarrollan algún tipo de infecciones oportunistas tienen graves enfermedades primarias y disminuyen sus defensas inmunitarias; sin embargo, las micosis sistémicas primarias también se presentan en tales enfermos y los gérmenes oportunistas también pueden infectar a sujetos inmunocompetentes ⁽³⁰⁾.

5. Micosis Superficial Este tipo de micosis es muy común en personas de todas las edades, presentándose de manera superficial en: el cuero cabelludo, la piel, las uñas y otras mucosas, siendo estas zonas parasitadas por los dermatófitos ⁽³⁰⁾.

6. Micosis Subcutánea Este tipo de infecciones son ocasionadas por hongos que se introducen directamente en la dermis a través de un daño intenso como la punzada de una espina. Estas se dividen en: esporotricosis, micetomas, cromoblastomicosis, lobomicosis y rinosporidiosis ⁽³⁰⁾.

7. Micosis Profunda Son generadas por una diversidad de especies de hongos que no solamente dañan la capa córnea de la piel, la hipodermis, órganos internos y osamenta. En el caso de estas patologías ocurren con mayor incidencia de los países de América Latina y algunas zonas de África ⁽³⁰⁾.

2.4. Hipótesis y Variables

2.4.1. Hipótesis General

- El extracto etanólico de las hojas de la *Mentha spicata* (hierba buena) tiene efecto antifúngico contra cultivos de *Cándida albicans*.

2.4.2. Hipótesis Especificas

- El extracto etanólico de las hojas de *Mentha spicata* (hierba buena) tiene efecto antifúngico superior al 80% contra cultivos de *Cándida albicans*.
- La dosis porcentual del extracto etanólico de las hojas de *Mentha spicata* (hierba buena) que tiene mayor efecto antifúngico contra cultivos de *Cándida albicans* es del 85%.

2.4.3. Operacionalización de Variables e Indicadores

Variables	Definición conceptual	Definición operacional	Dimensión o aspecto	Indicadores
Variable Independiente: extracto etanólico de las hojas de <i>Mentha spicata</i>	La carvona se encuentra en bajas cantidades en el aceite esencial de menta pero puede llegar a ser hasta el 60% o más en el aceite se utiliza como aditivo alimentario y en cosmética. Son principios activos que detienen el crecimiento de levaduras patógenas.	El Caveol y la carvona se pueden obtener por oxidación alílica de limoneno, y el verbenol y la verbenona por la oxidación alílica de α -pineno,	% de extracto etanólico	15, 25, 35, 50, 65, 85 y 100%

<p>Variable dependiente: Efecto antifúngico</p>	<p>Para evaluar efecto antifúngico de alguna molécula nueva se realizan estudios in vitro contra cultivos del microorganismo objeto de estudio</p>	<p>La medición del grado de sensibilidad de los hongos a los principios activos se establece desde la concentración mínima inhibitoria de las colonias a la acción del extracto etanólico de la planta en estudio.</p>	<p>Medios de cultivo</p>	<p>Diámetro del Halo de inhibición. % de inhibición de los halos</p>
--	--	--	--------------------------	--

CAPÍTULO III: METODOLOGIA

2.1. Tipo y nivel de la investigación

El estudio fue de tipo experimental, enfoque cuantitativo, prospectivo y transversal.

2.2. Población y muestra

Población: Cultivos de hongos *Cándida albicans*

Muestra: Placas con cultivos de *Cándida albicans*.

2.3. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

La técnica fue la observación. Los datos se recolectaron mediante una ficha estructurada e individual y en forma manual.

El instrumento fue una ficha de observación ad-hoc, diseñada para los fines específicos de la investigación.

2.4. Técnica de procesamiento y análisis de datos

Los datos se analizaron en el paquete de datos SPSS versión 20..

CAPÍTULO IV: PRESENTACIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

4.1. Presentación de Resultados

En la Tabla N° 1 y Figura N° 1 se observa alta variabilidad de los valores de los halos de inhibición y una cierta tendencia a que aumente el valor de diámetro conforme aumenta la concentración del extracto etanólico de *Mentha spicata*. Las concentraciones que mostraron mejor efecto fueron de 85 y 100% del extracto.

TABLA N° 1. Diámetro del halo de inhibición del extracto etanólico de *Mentha spicata* contra cultivos de *Candida albicans*.

PORCENTAJE (%) DE EXTRACTO ETANOLICO	CRECIMIENTO DE LOS HALOS DE INHIBICION (mm)		
	Día 3	Día 6	Día 9
Control SSF	0 mm	0 mm	0 mm
15%	5,5 mm	7,5 mm	9,8 mm
25%	7,5 mm	8,0 mm	12,7 mm
35%	12,0 mm	15,0 mm	15,6 mm
50%	8,0 mm	12,5 mm	14,5 mm
65%	8,7 mm	9,6 mm	11,4 mm
85%	21,0 mm	23,5 mm	24,8 mm
100%	17,5 mm	18,6 mm	19,8 mm

SSF = Solución salina fisiológica

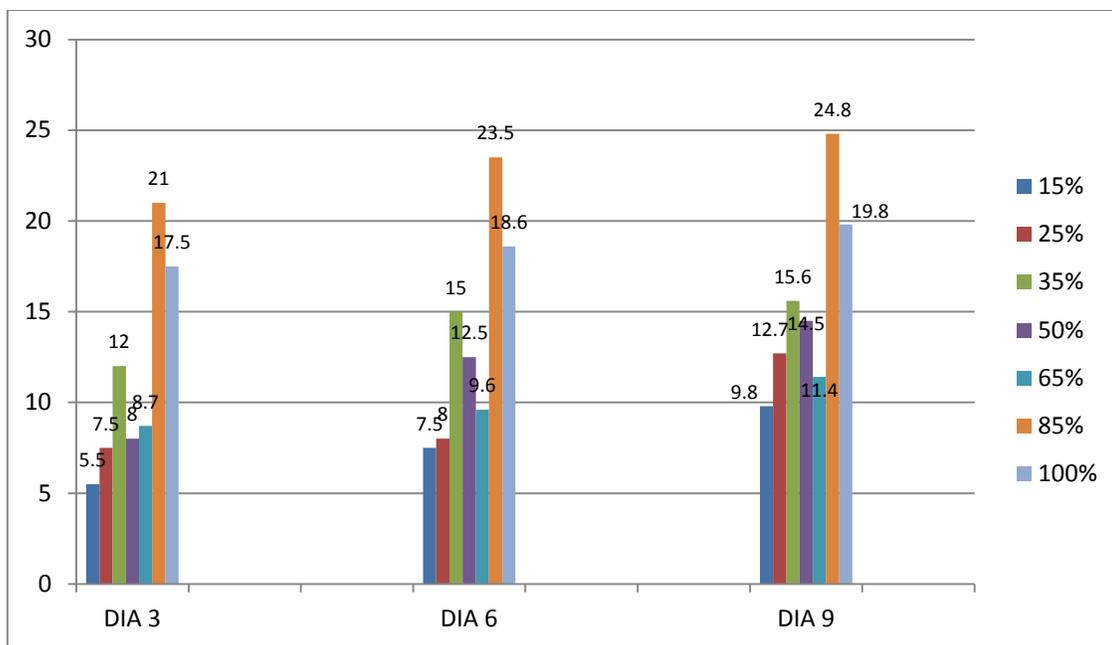


Figura N°1. Índice de inhibición del extracto etanólico de mentha spicata según dosis administrada a *Candida albicans*.

4.2. Discusión

En la presente investigación se ha evidenciado la actividad antifúngica del extracto etanólico de *Mentha spicata*, reportándose un considerable porcentaje de crecimiento de los halos de inhibición que fue de 85%.

En la Tabla N° 1, se observa que el extracto etanólico a una concentración de 85% de *Mentha spicata* tiene mayor concentración inhibitoria contra *Candida albicans*, tal como lo ratifica en el estudio Habiba B. y Col. (2011) en la que realizaron análisis e identificación de los aceites esenciales de hidrodestilados de dos especies de menta (*Mentha spicata* y *Mentha pulagium*)⁽³²⁾.

Los diversos tipos de aceites esenciales de la planta de menta tienen efectividad antibacteriana y antifúngica, ya que dentro de su composición presentan grupos fenólicos, alcoholes o cetonas. Entre los más representativos se encuentran compuestos fenólicos como el timol y el carvacrol; alcoholes, como linalol; y compuestos, como mentona⁽³³⁾ y eso

se corrobora en el estudio en la cual se observó en las hojas frescas de *Mentha spicata* L. provenientes de la Provincia de Concepción, Departamento de Junín ⁽³¹⁾.

Entre las aceveraciones que se puede plantear en el estudio, es que las hojas de *Mentha spicata* y otras especies pertenecientes a este género no solo afecta el crecimiento de hongos sino de bacterias y parásitos como la investigación realizada por Rojas y col., en ella evaluaron la actividad anti *Trypanosoma cruzi* in vitro de los aceites esenciales de diez plantas medicinales, entre ellas *Cymbopogon citratus* (hierba luisa) y *Mentha piperita* L. (menta), el aceite esencial de hierba luisa mostró actividad anti *Trypanosoma cruzi*; sin embargo, para el caso de la menta, no inhibió el crecimiento de T. cruzi. En concordancia con el presente estudio, la *Mentha piperita* (menta) presentó efecto antifúngico ⁽³⁴⁾.

Es importante resaltar que, al ser sometido el extracto etanólico a menores concentraciones, será menos efectivo o no presentarán halos de inhibición. Asimismo, los experimentos in vitro tienen sus limitaciones en cuanto a la posible eficacia in vivo; los resultados de este estudio merecen atención respecto del efecto antifúngico que presenta el extracto etanólico de *Mentha spicata*. Por lo tanto, se propone realizar futuras investigaciones. Y, a la vez, se sugiere hallar una concentración mínima inhibitoria ideal.

CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

- El extracto etanólico de las hojas de *Mentha spicata* tienen efecto antifúngico contra cultivos de *Cándida albicans*.
- La dosis porcentual del extracto etanólico de las hojas de *Mentha spicata* que presentó mayor actividad antifúngica fue de 85% seguido de la concentración del 100%.
- El porcentaje de inhibición del efecto antifúngico del extracto etanólico de *Mentha spicata* fue de 85%.

5.2. Recomendaciones

Se sugiere elaborar una forma farmacéutica adecuada que logre estabilizar los principios activos presentes en las hojas de la *Mentha spicata* como alternativa terapéutica contra *Candida albicans*.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Repositorio Digital Universidad Nacional de Chimborazo. Riobamba, Universidad Nacional de Chimborazo; UNACH-EC-FCS-ODT-2017-0036, Hierba Buena. 2017. En línea, fecha de acceso 23 noviembre 2018. URL disponible en: <http://dspace.unach.edu.ec/handle/51000/4482>.
2. OMS. Directrices sobre la conservación de plantas medicinales. Organización Mundial de la Salud (OMS). Unión internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN) and Worldlife Fund (WWF). Gland. 1993: 55.
3. Taylor C. Defense responses in plants and animals-more of the same. *Plant Cell*. 1998; 10: 873-876.
4. Osbourn A. Antimicrobial phytoprotectants and fungal pathogens: a commentary. *Fungal Genet Biol*. 1999; 26: 163-168
5. Gurgel L, Sidrim J, Martins D, Cechinel V, Rao S. In vitro antifungal activity of dragon's blood from *Croton urucurana* against dermatophytes. *J Ethnopharmacol*. 2005; 97(2):409-412
6. Braga F, Bouzada M, Fabri L, Matos M, Moreira O, Scio E, Coimbra E. Antileishmanial and antifungal activity of plants used in traditional medicine in Brazil. *J Ethnopharmacol*. 2007; 111(2):396–402
7. Sardi J, Scorzoni L, Bernardi T, Fusco-Almeida AM, Mendes Giannini MJ. *Candida species*: current epidemiology, pathogenicity, biofilm formation, natural antifungal products and new therapeutic options. *J Med Microbiol*. 2013; 62(Pt 1):10-24.
8. Sánchez J, González L, Rojas K, Muñoz G. Prevalencia de *Candida albicans* y su relación con cambios en el pH vaginal. 2017; 24(1)
9. Lopez S, Castelli M, Zacchino A, Dominguez J, Lobo G, Charris J, Cortes C, Ribas J, Devia C, Rodriguez A, Enriz R. In vitro antifungal evaluation and structure-activity relationships of a new series of chalcone derivatives and synthetic analogues, with inhibitory properties

- against polymers of the fungal cell wall. *Bioorg Med Chem.* 2001; 9(8): tan1999-2013.
10. Zacchino S Estratégias para a descoberta de novos agentes antifúngicos. En: Yunes and Calixto eds. *Plantas como fontes de novos medicamentos.* SC, Brasil: Grifos (Ed); 2001.
 11. Odio C. Tratamiento antifúngico en situaciones especiales: candidiasis resistente y aspergilosis. *Drugs Today (Barc).* 46 Suppl C: 33-46. 2010.
 12. Vásquez L. Efecto antifúngico de *Citrus paradisi* “toronja” sobre cepas de *Candida albicans* aisladas de pacientes con estomatitis subprotésica. Lima abr. / jun. 2016
 13. Espíndola Rosnira, Efecto Antifúngico in vitro del extracto etanólico de *Prosopis Pallida* (algarrobo) sobre *Candida albicans* ATCC 90028. 2015.
 14. Córdova I, Aragon O. Actividad antibacteriana y antifúngica de un extracto de *Salvia apiana* frente a microorganismos de importancia clínica *Revista Argentina de Microbiología*, vol. 48, núm. 3. 217-221. Julio-septiembre, 2016.
 15. Flores K, Actividad antifúngica “in vitro” de aceite esencial y extracto alcohólico de *Mentha piperita* “hierba buena” sobre *Candida albicans* cepa ATCC 10231. p 7. Ecuador, 2017.
 16. Velásquez Vera, Evaluación del efecto bactericida en *Campylobacter jejuni* de extractos de: *Equisetum giganteum*, *Mentha spicata*, *Litsea guatemalensis*, *Thymus vulgaris*, *Apium graveolens* e *Hibiscus sabdariffa*. Guatemala. p 7. 2011.
 17. Garza E. Caracterización taxonómica y molecular de *Cándida* spp. en aislados clínicos de origen bucal en pacientes sanos y diabéticos de Nuevo León. Universidad Autónoma de Nuevo León. México. 2012.
 18. Vásconez G. Efecto anti fúngico “in vitro” de aceite esencial y extracto alcohólico de *Rosmarinus officinalis* “Romero” sobre *Cándida albicans* cepa ATCC 10231. Universidad Nacional de Chimborazo, 2016.
 19. Marca M. Actividad Antimicótica “in vitro” del Aceite Esencial *Cinnamomum zeylanicum* Breyne “canela” Frente a *Cándida albicans*

- ATCC 6538, Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann, Tacna-Perú. 2013.
20. Pardi G, Cardozo E. Algunas consideraciones sobre *Cándida albicans* como agente etiológico de candidiasis bucal. *Univer. Odont.* 40(1): 9 – 17. 2002.
21. Marca M. Actividad Antimicótica “in vitro” del Aceite Esencial *Cinnamomum zeylanicum* Breyn “canela” Frente a *Candida albicans* ATCC 6538, Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann, Tacna-Perú. 2013.
22. Brizuela A, García L, Pérez L, Mansur M. Basidiomicetos: nueva fuente de metabolitos secundarios. *Rev Iberoam Micol*, 15, 69-74. 1998.
23. Sepúlveda G, Porta H, Rocha M. La participación de los metabolitos secundarios en la defensa de las plantas. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 21(3). 2003.
24. Lagarto A., Tillán J, Cabrera Y. Toxicidad aguda oral del extracto fluido de *Mentha spicata* L. (hierbabuena). *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 2(2), 6-8. 1997.
25. Salud y buenos alimentos. Salud y buenos alimentos. Clasificación y propiedades de la Menta (*Mentha spicata*). En línea. Fecha de acceso 31 octubre 2018. URL disponible en: <http://www.saludybuenosalimentos.es/alimentos/index.php?s1=Verduras/Hortalizas&s2=Hojas&s3=Menta>
26. Lagarto A, Tillán J, Cabrera Y. Toxicidad aguda oral del extracto fluido de *Mentha spicata* L. (hierbabuena). *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 2(2), 6-8. 1997.
27. Belden I, Actividad Antibacteriana de Aceite Escencial de *Mentha Spicata* L. sobre flora mixta salival. *Odontología Perú*. 89 (1): 28-29. 2013.
28. Concia E, Azzini A, Conti M. Las Infecciones Invasivas por *Candida* se Asocian con una Elevada Mortalidad. *Drugs*. 69(1): p. 5-14. 2009.

29. Lumbreras C, Lizasoain M, Aguado M. Antifúngicos de uso sistémico. *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica*, 21(7), 366-380. 2003.
30. Bohórquez L, Cardona N. Diagnóstico diferencial de las micosis superficiales con enfermedades dermatológicas. *CES Medicina*. 24(1): p. 37-52. Enero-junio 2010.
31. Habiba A, Chaker B, Farida S. Composición química y actividad antibacteriana de *Mentha L. pulegium* y *Mentha spicata L.* aceites esenciales. *Der Pharmacia Lettre*. 3 (4) 267-275. 2011.
32. Bastos M, Damé L, De Souza L, Almeida D, Alves M, Braga J. Actividad antimicrobiana de aceite esencial de *Origanum vulgare L.* ante bacterias aisladas en leche de bovino. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*. 16(3): 260-266. Cuba, 2011.
33. Percy D. Aronés C. Manual para la Producción de Plantas Aromáticas y Medicinales. Ministerio de la Mujer y Desarrollo Social – MIMDES. Mayo 2007
34. Rojas J, Solís H, Palacios O. Evaluación in vitro de la actividad anti *Trypanosoma cruzi* de aceites esenciales de diez plantas medicinales. *Anales de la Facultad de Medicina*. Perú: Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 71(3):161-165. 2010.

ANEXOS

Anexo 1: Testimonios fotográficos

a) Proceso de extracción etanólica de las hojas de *Mentha spicata*.



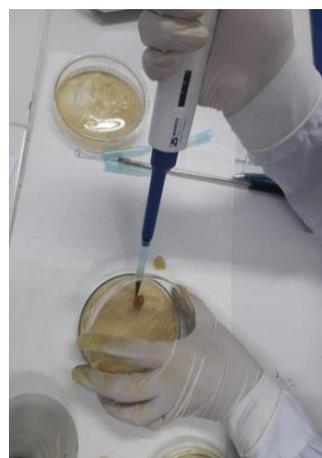
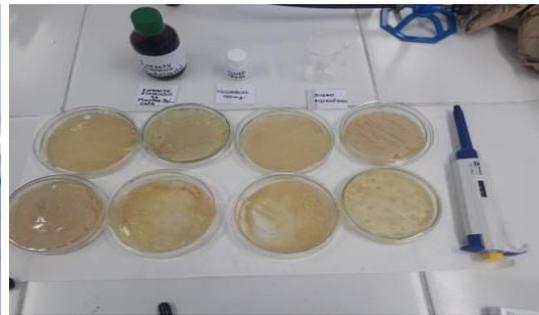
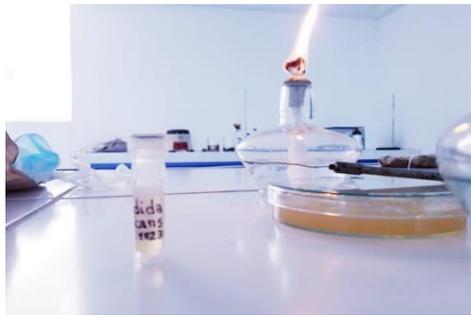
b) Esterilización de los materiales



c) Preparación del agar



d) Proceso del sembrado de *Candida albicans*



e) Medición de los halos de inhibición

