



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO DE PUNO

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA



EFECTO ANTIMICÓTICO IN VITRO DEL EXTRACTO DE LA CÚRCUMA (*CURCUMA LONGA*) FRENTE A LA CEPA DE *CANDIDA ALBICANS*

TESIS

PRESENTADA POR:

Bach. KARIN FABIOLA QUISPE MAMANI

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

LICENCIADA EN BIOLOGÍA

PUNO – PERÚ

2020



DEDICATORIA.

Dedico este trabajo a mis queridos padres,
Catalina Mamani de Quispe y Justo Quispe
Condori, que gracias a su apoyo, su amor,
comprensión y la educación que me
brindaron durante todo el transcurso de mi
vida.

A mi hermano Yoni y mis hermanas Lucy
y Gisel quienes siempre me guiaron, me
apoyaron y me dieron palabras de
motivación para jamás rendirme y poder
superarme cada día.

Karin Fabiola Quispe Mamani



AGRADECIMIENTOS.

Agradezco a Dios todo poderoso
por todo lo que me ha dado.

A la Universidad Nacional del Altiplano de
Puno, por haberme brindado la oportunidad de
forjarme mi futuro, en especial a la carrera
profesional de Biología y cuerpo docente por
sus conocimientos impartidos durante mi
formación profesional.

Un especial agradecimiento al
Licenciado Lorgio Palacios quien
me ayudo y aconsejo en el
desarrollo de este proyecto de
investigación.

A mis amigas y amigos que me acompañaron en
toda la carrera universitaria, siempre dándonos
ánimos y apoyándonos unos a otros y a todas las
personas que conocí durante todo este transcurso
de mi vida enseñándome y aconsejándome para
esta nueva etapa en mi vida profesional.

Karin Fabiola Quispe Mamani



INDICE GENERAL

DEDICATORIA	
AGRADECIMIENTOS	
INDICE GENERAL	
ÍNDICE DE FIGURAS	
ÍNDICE DE TABLAS	
ÍNDICE DE ACRÓNIMOS	
RESUMEN	13
ABSTRACT.....	14
CAPÍTULO I	
INTRODUCCIÓN	
1.1. OBJETIVO GENERAL.....	16
1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	16
CAPÍTULO II	
REVISION DE LITERATURA	
2.1. ANTECEDENTES.....	17
2.2. MARCO TEÓRICO.....	20
2.2.1. HONGOS DEL GÉNERO CANDIDA.....	20
2.2.2. Clasificación taxonómica de <i>Cándida albicans</i>	21
2.2.3. Características morfológicas de <i>Candida albicans</i>	21
2.2.4. Inmunidad y factores de huésped	22
2.2.5. Composición química de la pared celular de <i>Candida Albicans</i>	23
2.2.6. Patogenia y anatomía patológica y epidemiología de <i>Candida albicans</i>	24
2.2.7. Mecanismo de acción del fluconazol en <i>Candida albicans</i>	25
2.2.8. <i>Cúrcuma</i> (<i>Curcuma longa</i>)	26
2.2.9. Clasificación Taxonomía de la <i>Cúrcuma</i>	28
2.2.10. Distribución y hábitat	28
2.2.11. Propiedades de la <i>Cúrcuma</i>	29
2.2.12. Usos medicinales	29
CAPÍTULO III	
MATERIALES Y MÉTODOS	
3.1. ÁREA DE ESTUDIO.	31



3.2. TIPO DE ESTUDIO	32
3.3. POBLACION Y MUESTRA	32
3.4. DISEÑO DE INVESTIGACIÓN.	32
3.5. METODOLOGÍA.	35
3.5.1. Determinación de la Concentración Inhibitoria Mínima adecuada (35, 50, 65, 80 y 100%) del extracto de Cúrcuma longa, sobre la cepa de Candida albicans. ..	35
CAPITULO IV	
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	
4.1. CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA (CMI) DEL EXTRACTO DE CÚRCUMA CURUMA LONGA EN LAS CONCENTRACIONES DE 35, 50, 65, 80 Y 100% SOBRE LA CEPA DE CANDIDA ALBICANS,.....	45
4.2. COMPARACIÓN DEL EFECTO ANTIFÚNGICO IN VITRO DEL EXTRACTO DE CÚRCUMA LONGA Y FLUCONAZOL SOBRE LA CEPA CÁNDIDA ALBICANS.....	47
V. CONCLUSIONES	51
VI. RECOMENDACIONES	52
VII. REFERENCIAS.....	53
ANEXOS.....	61

Área: Ciencias Biomédicas.

Línea: Diagnóstico y Epidemiología.

FECHA DE SUSTENTACIÓN: 19 de noviembre del 2020



ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Esquema de la pared celular de <i>Cándida albicans</i>	23
Figura 2. Pared celular micótica de levaduras	24
Figura 3. Estructura molecular del imidazol, con dos moléculas de nitrógeno en el anillo azólico	26
Figura 4. Estructura molecular de triazoles, con tres moléculas de nitrógeno en el anillo azólico.	26
Figura 5. <i>Cúrcuma (Curcuma longa)</i>	28
Figura 6. Usos medicinales de la curcuma <i>Curcuma longa</i>	30
Figura 7. Zona de aislamiento de la cepa de <i>Candida albicans</i> , Hospital Regional Manuel Nuñez Butrón, y ejecución del proyecto Universidad Nacional Del Altiplano Puno, Durante los meses de Diciembre del 2019 hasta el mes de febrero del 2020.....	31
Figura 8. Prueba estadística de comparación de Duncan de la zona de inhibición con Curuma longa en concentraciones de 100%.80%, 65%, 50%, 35% y fluconazol sobre la cepa de <i>Candida albicans</i>	49
Figura 9. Obtención del rizoma de cúrcuma <i>Curcuma longa</i> adquirido en la ciudad de Juliaca diciembre 2019	61
Figura 10. Secado del rizoma <i>Curcuma longa</i> para poder moler y así poder hacer el extracto de cúrcuma	61
Figura 11. Maceración y filtración del extracto de cúrcuma " <i>Curcuma longa</i> " en el laboratorio de microbiología.....	61
Figura 12. Obtención del extracto puro de <i>Curcuma longa</i>	62



Figura 13. Dilución del extracto de cúrcuma en las diferentes concentraciones de 35, 50, 65, 80 y 100% de <i>Curcuma longa</i>	62
Figura 14. Impregnación de los discos de sensibilidad de papel filtro canson con las diferentes concentraciones de 35, 50, 65, 80 y 100% del extracto de curcuma " <i>Curcuma longa</i> "	62
Figura 15. Recolección de muestras biológicas y centrifugado de estas para poder obtener la cepa de <i>Candida albicans</i>	63
Figura 16. Agar Sabourround para el aislamiento de la cepa de <i>Candida albicans</i>	63
Figura 17. Aislamiento de la cepa de <i>Candida albicans</i>	63
Figura 18. Incubación por 2 a 4 horas del tubo germinativo	64
Figura 19. Observación al microscopio de <i>Candida albicans</i> a 40x	64
Figura 20. Observación al microscopio 40x para <i>Candida albicans</i> tubo germinativo.	64
Figura 21. Comparación de la turbidez con la escala de Mac Farland	65
Figura 22. Halo de inhibición a una concentración de 35% de extracto de Curcuma " <i>Curcuma longa</i> frente a la cepa de <i>Candida albicans</i>	65
Figura 23. Halo de inhibición a una concentración de 50% de extracto de Curcuma " <i>Curcuma longa</i> frente a la cepa de <i>Candida albicans</i>	65
Figura 24. Halo de inhibición a una concentración de 65% de extracto de Curcuma " <i>Curcuma longa</i> frente a la cepa de <i>Candida albicans</i>	66
Figura 25. Halo de inhibición a una concentración de 80% de extracto de Curcuma " <i>Curcuma longa</i> frente a la cepa de <i>Candida albicans</i>	66
Figura 26. Halo de inhibición a una concentración de 100% de extracto de Curcuma " <i>Curcuma longa</i> frente a la cepa de <i>Candida albicans</i>	66
Figura 27. Control positivo (fluconazol)	67



ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Diseño del experimento, concentraciones y número de repeticiones para hallar la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI).....	33
Tabla 2. Diseño de la investigación para poder comparar el efecto inhibitorio in vitro de la mejor concentración inhibitoria del extracto de <i>Curcuma longa</i> y el antifúngico fluconazol sobre <i>Candida albicans</i>	34
Tabla 3. Preparación de concentraciones o tratamientos del extracto de cúrcuma <i>Curuma longa</i> , laboratorio de microbiología de la Facultad de Medicina Humana De La Universidad Nacional Del Altiplano Puno, Durante los meses de Diciembre 2019aFebrero2020.....	40
Tabla 4: Tabla de Estandarización de los halos de inhibición (mm).....	43
Tabla 5: Determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) del extracto de <i>Curcuma longa</i> "cúrcuma" en diferentes concentraciones.....	46
Tabla 6. Inhibición anti fúngico in vitro del extracto de <i>Curcuma longa</i> y fluconazol sobre <i>Candida albicans</i>	48



ÍNDICE DE ACRÓNIMOS

%: porcentaje.

% inhibición: porcentaje de inhibición.

≤: menor o igual.

°C: grados centígrados.

µg : microgramos.

µl: microlitros

ml: mililitros

C: *Candida*.

CMI: concentración mínima inhibitoria.

et al. : Y colaboradores.

FCCBB : Facultad de Ciencias Biológicas.

g : gramos.

HRMNB : Hospital Regional Manuel Núñez Butrón.

ITU : infecciones del tracto urinario.

ASD: Agar Sabouraud Dextrosa

n : tamaño de muestra.

CLSI: Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio

No : número.

OMS : Organización Mundial de la Salud.

INS: Instituto Nacional De Salud

Mm: milímetros

R1, R2 y R3: repeticiones 1, 2 y 3.

spp : especies.

UNA – P : Universidad Nacional del Altiplano – Puno.



Φ : diámetro.

DE: Desviación estándar

C+: Control positivo



RESUMEN

La resistencia antifúngica en las infecciones urinarias son muy frecuentes, convirtiéndose actualmente en un problema de salud pública, razón por la cual se realizó la presente investigación, con el objetivo de poder determinar la Concentración Mínima inhibitoria adecuada del extracto de *Curuma longa*, sobre la cepa de *Candida albicans* la metodología utilizada para determinar la Concentración Mínima inhibitoria adecuada (35, 50, 65, 80 y 100%) del extracto de *Curuma longa*, sobre la cepa de *Candida albicans* fue la de difusión de disco (CLSI, 2020) ,Y para comparar el efecto anti fúngico in vitro del extracto de *Curuma longa* y Fluconazol sobre la cepa *Candida albicans* fue el de kirby Bauer de concentraciones “in vitro” y para verificar la comparación del efecto inhibitorio in vitro del extracto de cúrcuma *Curuma longa* y el antibiótico fluconazol sobre la cepa del hongo *Candida albicans* se utilizó el análisis de varianza (ANDEVA) de un diseño completamente al azar (DCA) y para determinar las diferencias entre las concentraciones respecto a la inhibición producida en *Candida albicans*, se utilizó la prueba la comparación de medias de Duncan; los resultados obtenidos es que la concentración mínima inhibitoria (CMI) del extracto de cúrcuma es del 35%, con un promedio de halo de inhibición del 20.33 mm y su efecto fungicida del 78.01% de inhibición, respecto a la inhibición fúngica se obtuvo un promedio de 26.06 mm de halo de inhibición por fluconazol en relación al extracto de cúrcuma al 100% con un promedio del 25.19 mm de inhibición Concluyendo que el extracto de cúrcuma si presenta efecto antifúngico frente a la cepa de *Candida albicans*; este resultado beneficiara a todas aquellas personas que quieran optar por la medicina natural para combatir la candidiasis y disminuir el gasto en medicamentos.

Palabras claves: *Candida albicans*, *Cúrcuma longa*, Extracto, inhibición,



ABSTRACT

Antifungal resistance in urinary tract infections is very frequent, currently becoming a public health problem, which is why the present investigation was carried out, in order to be able to determine the appropriate Minimum Inhibitory Concentration of the *Curcuma longa* extract, on the strain of *Candida albicans*, the methodology used to determine the adequate Minimum Inhibitory Concentration (35, 50, 65, 80 and 100%) of the extract of *Curcuma longa*, on the *Candida albicans* strain was that of disk diffusion (CLSI, 2020), and to compare the in vitro antifungal effect of the *Curcuma longa* and Fluconazole extract on the *Candida albicans* strain was that of Kirby Bauer of concentrations "in vitro" and to verify the comparison of the in vitro inhibitory effect of the turmeric extract *Curcuma longa* and the antibiotic fluconazole on the strain of the fungus *Candida albicans*, the analysis of variance (ANDEVA) of a completely randomized design (DCA) was used and for To determine the differences between the concentrations with respect to the inhibition produced in *Candida albicans*, the Duncan's mean comparison test was used; The results obtained is that the minimum inhibitory concentration (MIC) of the turmeric extract is 35%, with an average inhibition halo of 20.33 mm and its fungicidal effect of 78.01% inhibition, with respect to the fungal inhibition an average of 26.06 mm of inhibition halo by fluconazole in relation to the 100% turmeric extract with an average of 25.19 mm of inhibition. Concluding that the turmeric extract does present an antifungal effect against the *Candida albicans* strain; This result will benefit all those who want to opt for natural medicine to combat candidiasis and reduce spending on medications.

Keywords: *Candida albicans*, *Curcuma longa*, Extract, inhibition,



CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

Se ha estimado que aproximadamente el 75% de todas las mujeres, en algún momento de su vida van a desarrollar infección causada por hongos y de estas el 40% a 50% desarrollan recurrencias que también pueden estar relacionadas a condiciones más serias, como la infección por VIH (pacientes inmunosuprimidos) o pacientes diabéticos. (Alvarado, 2016), La candidiasis también pueden ser de origen nosocomial o comunitario; a consecuencia la revista peruana de ginecología y obstetricia busca un diagnóstico y tratamiento adecuado para poder contrarrestar estas infecciones causadas por levaduras, (Reynaud, 2007) reportó un 50% de las infecciones causados por bacterias y el 30 al 35% son causados por la *Candida*, considerándose así la segunda causa más frecuente de las infecciones urinarias; tal como reporta Pamo; 2010, que de todos los urocultivos realizados al menos el 1% a 8% de ellos son diagnosticados por candidiasis. Es por ello que busca una terapia eficaz para la candidiasis; la INS en el 2013 reporta con la participación de 7 hospitales nacionales que los hongos oportunistas más frecuentes fueron *Candida albicans* en un 66.6%, *Candida tropicalis* 29,6% y *Candida parapsilosis* 11.1%, al observar la incidencia de las infecciones causadas por hongos, la población llega a fomentar el uso masivo de anti fúngicos, utilizándolo de forma preventiva como terapéutica, trayendo consigo graves consecuencias como la multidrogoresistencia a los diferentes antifúngicos; es por ello que la población recurre a la medicina natural en busca de plantas medicinal, especias entre otros que tengan el mismo efecto antimicótico que el fármaco pero menos dañino.

La cúrcuma *Curuma longa* una planta que ha sido utilizada como medicina, condimento y cosmético alrededor del mundo. La *Curuma longa* es nativa del sudeste



asiático, pero también se ha expandido en el Perú de forma semi silvestre en la selva alta y baja, el rizoma es la parte más utilizada, el principal compuesto bioactivo que posee esta planta son los curcuminoides (curcumina, demetoxicurcumina, bisdemetoxicurcumina, etc.) y sesquiterpenos (ar-turmerona, β -bisabolena, α -curcumeno, zingibereno, curlona, etc. Valtueña,2018 .Asimismo, posee un efecto antiinflamatorio y es utilizado para el tratamiento de trastornos hepáticos, anorexia, tos, úlceras diabéticas, artritis reumatoide, sinusitis, hipotensión arterial, cardiotónico, hemorragia uterina y venas varicosas entre otros(Cornejo, 2017) antiguamente la cúrcuma solo era considerado en el arte culinario de la cocina o usado como un antibacteriano pero lo toman en menor importancia como un anti fúngico ya que teóricamente (Herrero, 2018) llega a describir a la cúrcuma como un anti fúngico.

Por lo expuesto, la investigación realizada demuestra el efecto antifúngico que posee el extracto de cúrcuma *Curuma longa* frente a la cepa de *Candida albicans* usando dos controles uno positivo (fluconazol) y el control negativo (agua destilada) comparando así la efectividad del extracto y del fármaco la cual servirá a los pacientes con candidiasis a poder optar un tratamiento natural y sin el uso de fármacos, por tal razón se planteó los siguiente objetivos:

1.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar la actividad anti fúngica in vitro del extracto de la cúrcuma *Curuma longa*, sobre la cepa *Candida albicans*.

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Determinar la Concentración Mínima inhibitoria adecuada (35, 50, 65, 80 y 100%) del extracto de *Curuma longa*, sobre la cepa de *Candida albicans*.
- b) Comparar el efecto anti fúngico in vitro del extracto de *Curuma longa* y Fluconazol sobre la cepa *Candida albicans*.



CAPÍTULO II

REVISION DE LITERATURA

2.1 ANTECEDENTES

Samadi, et al, 2018 observa la actividad anti fúngica que posee la *Curuma Longa*, gracias a su componente principal, que es la curcumina; dicho estudio lo realizó con un 95% de confiabilidad y que se llevó a cabo a causa de la gran resistencia farmacológica que hoy en día se puede observar en la población; de manera similar Meza, et al (2000) lleva a cabo un estudio basado en la cúrcuma, concluyendo que los curcuminoides si son los responsables en gran parte de sus diferentes propiedades medicinales que esta posee, ya sean antiinflamatorios, antibacterianos y antimicóticos; y gracias a ese estudio es que Saiz, 2014 demuestra una propiedad medicinal más, aparte de los ya descritos anteriormente, que es ser antiparasitaria. Y ahora en estos últimos años, Carril et al, 2014 llega a corroborar mediante investigaciones bibliográficas que la *Curuma longa* posee grandes beneficios para el hombre como los ya antes mencionados y que no solo se puede utilizar como una especia en la industria alimentaria; seguidamente los estudios de Oneyda, et al, 2011; Peña,2016 y Sirisidthi, et al,2015 llegan con una misma conclusión acerca de la *Curuma longa* que posee una actividad anticancerígena, antiinflamatoria, antimicrobiana, anti fúngica, anti lipémia, anti hepatoprotectora, con una protección cardiovascular y con una protección gastrointestinal, estos últimos estudios fueron corroborados mediante investigaciones experimentales que dichos autores llevaron a cabo con un nivel de confianza de 95 y 99% estadísticamente.



Rojas, et al, 2017 corrobora la actividad antibacteriana y anti fúngica de la cúrcuma, mediante un extracto hidro alcohólico de la *Curuma longa* con una CMI de 25% de cúrcuma sobre la cepa de *Candida albicans* y *Staphylococcus aureus*; al igual que en el estudio experimental de Gomez, et al, 2017 llega a demostrar que el extracto de cúrcuma posee una concentración fungicida mínima de 33.78 \pm 2.64 % sobre la cepa de *Candida albicans* y de manera similar a los estudios de Cornejo, et al, 2017 llega a determinar su efecto que posee la cúrcuma pero partir del aceite esencial, y al mismo tiempo Acevedo y Gutierrez, 2017 confirman en su estudio que el aceite esencial llega a poseer un efecto antifúngico con un CMI de 19.8mm contra la cepa de *Candida albicans*, ambos estudios se basaron bajo los estudios de Apisariyakul, et al 1995 que ya mucho más antes realizó el estudio con el aceite de *Curuma longa* y comprobó su efecto antimicótico con quince aislamientos de dermatofitos, demostrando su inhibición por la curcumina.

Por otro lado en los estudios de Gomez., et al, 2012 llega a concluir que con tan solo con una pequeña cantidad de curcumina y fluconazol, pueden llegar a actuar sinérgicamente para poder sensibilizar a la cepa de *Candida albicans* que fue aislado de una población inmunodeprimido

Como también en otros estudios parecidos, llegan a demostrar el efecto antimicótico que posee la cúrcuma; como por ejemplo tenemos al estudio realizado por Palmieri, et al, 2018. Que fabrica un recubrimiento en dispositivos médicos, poniendo en las superficies nano compuestos de curcumina PEG reduciendo la adhesión, proliferación y formación de *Candida albicans*. Y de igual manera el trabajo de Leonhard, et al, 2018 demuestra el efecto eficaz de 2aminobencimidazol (2ABI) y la curcumina (CUR) inhibiendo el crecimiento de *Candida albicans* y *Staphylococcus aureus* en siliconas.



Acerca de la epidemiología y la frecuencia de *Candida albicans*, se encontró en los estudios de Sobel, 2007 dando a conocer todo sobre la candidiasis, su epidemiología, su patogenicidad, sus factores predisponentes y sus diferentes tratamientos que se pueden emplear para poder combatir dicha micosis, concerniente a esto Hernández, 2009 concluye con 230 muestras citológicas cérvico vaginales, el 28% presentaron infección por *Candida albicans* y según las estadísticas de la unión americana un 75% de mujeres padecen un episodio de candidiasis vulvovaginal, de ahí que Rodríguez, 2011 pudo identificar 103 cepas de levaduras que fueron aisladas de exudados vaginales y las principales cepas aisladas fueron *Candida albicans* en un 62,2%, seguido por *Candida glabrata* en un 34,9% y por último *Candida krusei* en un 3%. Y gracias a dichos estudios Sánchez, 2015 concluye que la candidiasis es causante en un 11%, de las infecciones urinarias y las más frecuentes en mujeres y su comorbilidad más importante es la diabetes mellitus tipos 2, por otra parte Colomer, 2012 comprueba que la infección vaginal es la segunda causa más frecuente en mujeres comprendidas en la edad fértil.

Según el estudio de Echevarria, et al, 2006 obtiene como resultados que los casos encontrados con ITU, causados por *Candida albicans* se encuentran en pacientes diabéticos, inmunosuprimidos o que están recibiendo antibióticos con un amplio espectro.



2.2 MARCO TEÓRICO.

2.2.1 HONGOS DEL GÉNERO CANDIDA.

Las levaduras que pertenecen al género *Cándida* comprende más de 160 especies y una de sus principales características es la ausencia en la forma sexual, a excepción de algunas especies micóticas (Murray, 2014). Son clasificadas como levaduras, con un desarrollo unicelular

Solo algunas especies pertenecientes al género *Cándida* tienen la capacidad de adaptarse a las temperaturas normales del cuerpo humano 37°C; y en algunas ocasiones pueden llegar a ser patógenas para el ser humano cuando este se encuentra inmunodeprimido y es por ello que se les considera como hongos oportunistas (Salazar, 2019). Son siete, las especies más representativas de *Cándida* que podemos observar (Murray, 2014), ellas son:

Candida albicans

Candida tropicalis

Candida stellatoidea

Candida pseudotropocalls

Candida Kruseii

Candida parapsiloides

Candida guilliermondii

Candida albicans

Sabiendo que Charles Phillippe Robin, padre de la *Cándida*, en 1853, describe la biología del hongo *Candida albicans*, denominándola primero como *Oidium albicans*; quince



años después Charles Quinquaud (discípulo de Robin) la denominó *Syringospora robini* (Suncita, 1923).

En los años 1893-1936, la micóloga holandesa Christine Marie Berkhout, presentó su tesis doctoral en la Universidad de Utrecht, describiendo el género *Cándida*, femenino del adjetivo latino *Candidus*, que viene a significar “blanco brillante”, o ardiente o luciente (Angulo, 2003). Los taxonomistas, mantuvieron el nombre de la especie de Robin (1853) y el género de *albicans* por Berkhout 1923. Que fue aceptado por el tercer congreso internacional de microbiología en Nueva York en 1939, por lo cual todas las afecciones producidas por *Cándida* se conocen con el nombre de candidiasis (Murray, 2014)

2.2.2 Clasificación taxonómica de *Cándida albicans*

Reino: Fungi (Mycota)

División: Ascomycota

Subdivisión: Saccharomycotina

Clase: Saccharomycetes

Orden: Saccharomycetales

Familia: Saccharomycetaceae

Género: *Candida*

Especie: *albicans* (Garza, 2012)

2.2.3 Características morfológicas de *Candida albicans*

Candida albicans es un organismo unicelular; en el estado saprófito se puede observar en forma de levadura (Pineda - murillo J, 2017), de forma redonda u ovalada de aproximadamente 2 a 4 micras (Murray, 2014). Sus paredes son finas. Cuando se



encuentra en estado parasitario forma filamentos con extremos redondos de 3 a 5 micras de diámetro (Arenas, 2014).

Su longitud es variable pues los brotes no se separan de la célula madre y toman así una forma cilíndrica, formando un pseudomicelio, que son células alargadas de levadura que permanecen unidas entre sí (Murray, 2014)

Desde un punto de vista microscópica de las especies de *Cándida* son similares, todas las levaduras son Gram positivas (Murray, 2014), en algunas ocasiones la forma de Las blastosporas puede variar de ovoide a elongada o esférica. Microscópicamente. *C. albicans* presenta dimorfismo, el cual se transforman de la forma ovoide de las blastosporas (levaduras) gemantes a hifas (Arenas, 2014). La transformación de blastosporas (levaduras) a micelio, es sinónimo de cambio del estado de comensalismo al de parasitismo (Murray, 2014).

2.2.4 Inmunidad y factores de huésped

Una vez que el microorganismo invade los tejidos o penetra el torrente circulatorio, los polimorfo nucleares, monocitos, macrófagos y eosinófilos actúan como mecanismo de defensa por lo que se requiere la respuesta inmune de la IgG y otros componentes que ejercen una acción opsonizante sobre *Candida albicans* (Gonzales V. C., 2017)

La capacidad de adhesión de *Candida albicans* presenta una relación directa con el nivel de virulencia que se lleva a cabo por medio de la interacción de un ligando con su receptor y las fuerzas electrostáticas de van de Waals. (Murray, 2014)

La diversidad de secreción de diversas enzimas influye en el potencial de patogenicidad de esta especie y *Cándida* secreta aspartilproteinasas y llegan a hidrolizar proteínas pertenecientes a las defensas del hospedador frente a la infección, lo que permiten que atraviesen las barreras del tejido conjuntivo. De la misma manera, casi todas las especies

de *Cándida* que provocan enfermedad en el ser humano genera fosfolipasas (Murray, 2014)

2.2.5 Composición química de la pared celular de *Candida Albicans*.

La composición química de la pared de *Candida albicans* está representada por 20-40% de proteínas y 30-50% de polisacáridos (Gonzales Y. C., 2015), mientras que la proporción de lípidos es variable. La pared celular de *Candida albicans* está compuesta principalmente por los polisacáridos Manán, Glucán y Quitina (Arenas, 2014).

Estudios ultraestructurales de la pared celular de *Candida albicans* han demostrado una compleja micro arquitectura. La pared está compuesta por varias capas (figura 1), su número y su morfología varían; esta variación está relacionada con varios factores tales como: la etapa de crecimiento celular, la forma de crecimiento (como levadura o como tubo germinal), la capa seleccionada para su estudio, el medio de cultivo empleado para el crecimiento celular y los procedimientos de fijación (Flores, 2017). La mayoría de los investigadores han descrito cinco capas dentro de la pared celular, las cuales son (de adentro hacia afuera): Manoproteínas, B-Glucan-Quitina, B-Glucan, Manoproteínas y una capa de fibrillas (figura 2) (Quispe, 2017).

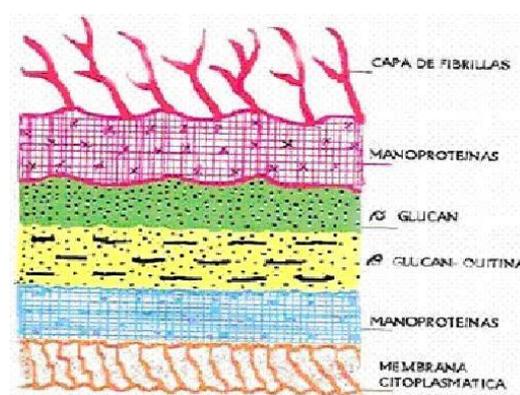


Figura 1: Esquema de la pared celular de *Cándida albicans*,
Fuente: <https://www.google.com.pe/Kf4Ag&q=estructura+molecular+de+candida+al+bicans&oq=estructura+molecular+de+candida+albicans&g>

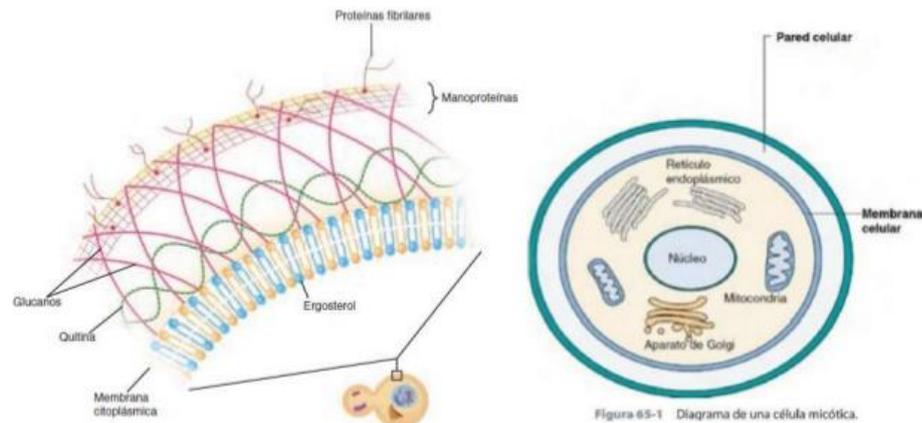


Figura 2: Pared celular micótica de levaduras

Fuente. https://www.google.com.pe/search?rlz=1C1GGRV_enPE751PE751&biw=109

2.2.6 Patogenia y anatomía patológica y epidemiología de *Candida albicans*

La principal causa de su patogenia de la candidiasis está más relacionado con las alteraciones del sistema inmunológico, así como otros factores predisponentes que llegan a interferir en el equilibrio biológico, manteniendo a las levaduras en estado comensal (Gonzales Y. C., 2015). A partir de todo ello es por lo que surge un incremento en el número total de células de *Cándida* y daño de la piel o del epitelio, que permite la invasión local por las levaduras y por las pseudohifas (Arenas, 2014). Aparece candidiasis sistémica cuando llega a penetrar en la corriente sanguínea y las defensas del hospedador no bastan para contener la proliferación y la diseminación de dichas células (Murray, 2014). Desde la sangre *Cándida* infecta riñones se fija a las prótesis valvulares del corazón o produce candidiasis en cualquier otro sitio (como artritis, meningitis o endoftalmitis). (Gonzales Y. C., 2015)

La epidemiología de *Candida albicans* en condiciones normales es parte de la flora orofaríngea, gastrointestinal y del aparato reproductor femenino (Murray, 2014). Las infecciones son endógenas excepto en casos de contacto directo de la mucosa con lesiones de otras personas (por ejemplo el contacto sexual Los procedimientos con



penetración corporal y los dispositivos a permanencia pueden actuar como sitio de entrada para la infección y el número de microorganismos de *Cándida* disponibles puede incrementarse con el uso de fármacos antibacterianos (Arenas, 2014) y de acuerdo a los reportes por parte del programa de vigilancia antimicrobiana SENTRY, *Candida albicans* es la especie que se aísla con mayor frecuencia entre un 48.4% en las candidiasis y esta seguida de *Candida glabrata* de un 18%, *Candida parapsilosis* 17.2%, *Candida tropicalis* 10%, *Candida krusei* 1.9% y *Candida* spp con un 4.5% (Gonzales Y. C., 2015).

2.2.7 Mecanismo de acción del fluconazol en *Candida albicans*.

Los antifúngicos azólicos se dividen en dos grupos estructurales y dentro de ellas tenemos los imidazoles (dos moléculas de nitrógeno en el anillo azólico) (Figura 3), y los triazoles (con tres moléculas de nitrógeno en el anillo azólico) (Figura 4); dentro de este grupo podemos encontrar al fluconazol, fármaco de primera generación y su mecanismo de acción actúa inhibiendo la enzima lanosterol 14- α -demetilasa dependiente del citocromo P450 fúngico, esta enzima participa en la conversión de lanosterol en ergosterol, y su inhibición altera la síntesis de la membrana celular del hongo (Figura 2), la inhibición de la síntesis del ergosterol comporta la inhibición de la proliferación de la célula fúngica (fungostático) o bien la muerte celular (fungicida) (Murray, 2014)

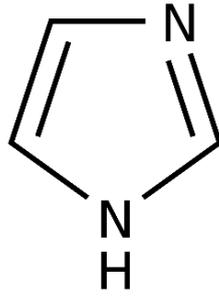


Figura 3: Estructura molecular del imidazol, con dos moléculas de nitrógeno en el anillo azólico

Fuente:https://www.google.com/imgres?imgurl=http%3A%2F%2Fwww.infofarmacia.com%2F_%2Fsrc%2F1379788551392%2Fmicrobiologia

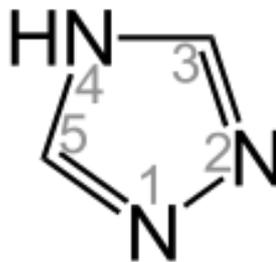


Figura 4: Estructura molecular de triazoles, con tres moléculas de nitrógeno en el anillo azólico.

Fuente:<https://www.google.com/imgres?imgurl=https%3A%2F%2Fupload.wikimedia.org%2Fwikipedia%2Fcommons%2Fthumb>

2.2.8 Cúrcuma (*Curcuma longa*)

Curuma Longa L. es una planta herbácea perteneciente a la familia Zingiberaceae originaria del sudeste asiático (Gomez E. , 2017), es conocida comúnmente por sus propiedades medicinales en la medicina tradicional india (Flores, 2017). Son muchas las propiedades atribuidas a los extractos de *Curuma longa* y a su principal componente la curcumina (Gomez E. , 2017). Esta planta es comúnmente utilizada como aromatizante de los alimentos, con propiedades cosméticas; también ha sido utilizada en la protección y tratamiento de afecciones cutáneas, hepáticas, digestivas y contra



parásitos intestinales, como remedio de venenos y de picaduras de serpientes (Gomez G. , 2012).

El rizoma de *Curuma longa* ha sido tema de muchas investigaciones y se ha intentado encontrar sus principios activos con el fin de poder optimizar su actividad y de explicar su mecanismo de acción (Gomez G. , 2012); se han preparado numerosos extractos, etanólicos, metanólicos y con distintos solventes para analizar sus actividades biológicas. (Navarro, 2013) La curcumina (diferuloilmetano) es la sustancia causante del color amarillo característico de los rizomas de esta planta, y es uno de los ingredientes activos responsable de su actividad biológica (Casanova, 2018). La síntesis de este compuesto es conocida y su estructura fue determinada en 1910

Los reportes afirman que desde 1974 se conoce la actividad antibacteriana in vitro del extracto alcohólico de *C. longa*, de la curcumina y de sus aceites esenciales contra las bacterias Gram positivas (Flores, 2017). En 1978 se demostró la actividad antifúngica de la cúrcuma en uno de sus principales metabolitos que es la curcumina (Aguirre, William, Toribio, & Paolo, 2017), así como del uso tópico del aceite de *Curuma longa*, en un experimento realizado en cobayas y en condiciones in vitro sobre varios aislados patológicos (Alexandra J. Velasco C. Vanegas P., 2017) (figura 5)

2.2.9 Clasificación Taxonomía de la Cúrcuma

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Liliopsida

Orden: Zingiberales

Familia: Zingiberaceae

Género: *Cúrcuma*

Especie: *Curuma longa* (Alexandra J. Velasco C. Vanegas P., 2017)



Figura 5: Cúrcuma (Curuma longa)

Fuente. https://www.google.com.pe/search?q=curcuma&rlz=1C1GGRV_enPE751PE751&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ved=0ahUKEwiWzsjCs

2.2.10 Distribución y hábitat

Se encuentra ampliamente distribuida en India y en Asia (Aguirre, William, Toribio, & Paolo, 2017), en el Perú son cosechadas en la selva alta y baja; Está adaptada a zonas cálidas húmedas y crece a 1 – 1,200 msnm (Alexandra J. Velasco C. Vanegas P., 2017). Necesita temperaturas de entre 20 y 30 °C. Y su crecimiento es mucho mejor en campos abiertos con mucha iluminación y suelo fértil con un pH ligeramente ácido.



2.2.11 Propiedades de la Cúrcuma

Es una planta poco calórica, baja en grasas y fundamentalmente compuesta por 69,4% del peso total de carbohidratos, con una alta proporción de minerales como el potasio, fósforo y magnesio, como también es una fuente de vitaminas C y E, El compuesto fenólico que presenta en un 2 – 9% de la planta son los que pertenecen al grupo de los curcuminoides (Herrero, 2018), la curcumina es el componente principal y responsable de su color amarillo vibrante que constituye el 2 al 5% de la planta (Aguirre, William, Toribio, & Paolo, 2017).

2.2.12. Usos medicinales

Se han hecho investigaciones sobre los fito químicos que contienen la cúrcuma en busca de potenciales efectos en enfermedades tales como cáncer, artritis, diabetes y otros desórdenes químicos (Flores, 2017)

De acuerdo con un informe, se está incrementando la actividad investigadora en la cúrcuma y la curcumina. A fecha de septiembre de 2012, los Institutos Nacionales de Salud de Estados Unidos han registrado 71 ensayos clínicos terminados o en proceso para estudiar el uso de curcumina dietética en varios desórdenes clínicos (Lorena L, 2017).

En unos estudios preliminares, se está analizando la curcumina para saber si altera la respuesta a la quimioterapia en pacientes con cáncer de intestino avanzado, (Farcol, 2000).

Aplicación terapéutica	Principal mecanismo de acción
<i>Cáncer</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Inhibición de la tioredoxina reductasa - Aumento de la vida media de p53 - Activación de las caspasas - Modulación de factores del crecimiento
<i>Alteraciones hepáticas</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Antioxidante - Disminución de los niveles de AST, ALT y ALP
<i>Asma y alergias</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Inhibición de la proliferación de linfocitos inducida por Dermatophagoides - Inhibición de la producción de IL-2, IL-5, GM-CSF e IL-4 - Restauración de la actividad de HDAC
<i>Gastritis</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Inhibición del factor nuclear Kappa-B (NFκ B), o las B-catequinas. - Inhibición del espasmo intestinal - Aumento de la gastrina, secretina, bicarbonato y en la secreción de enzimas pancreáticas.
<i>Artritis</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Capacidad antiinflamatoria mediante la inhibición de los mediadores inflamatorios clave.
<i>Alteraciones en la retina</i>	<ul style="list-style-type: none"> -Modulación de la expresión de proteínas reguladoras del estrés oxidativo -Inhibición de las respuestas inflamatorias
<i>Psoriasis</i>	<ul style="list-style-type: none"> -Modulación de la expresión de proteínas reguladoras del estrés oxidativo - Inhibición de las respuestas inflamatorias - Inhibición de fosforilasas quinasas
<i>Diabetes y enfermedades cardiovasculares</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Aumento de la relación NADPH / NADP y enzimas oxidativas - Inactivación de mediadores inflamatorios y citoquinas inflamatorias.

Tabla 2: Principales aplicaciones terapéuticas de *Curcuma Longa L.*

Figura. 6 Usos medicinales de la cúrcuma Curuma longa

Fuente:<http://147.96.70.122/Web//TFG/Memoria/ANDREA%20VALTUE%C3%91A%20MURILLO.pdf> (Valtueña,2018)

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. ÁREA DE ESTUDIO.

El trabajo de investigación fue realizado en el Laboratorio de Microbiología de la Facultad De Medicina Humana de la Universidad Nacional Del Altiplano – Puno. (Figura 7), La cepa de *Candida albicans* se obtuvo en el servicio de patología Clínica del Hospital Regional Manuel Nuñez Butrón – Puno, área de microbiología de la ciudad de Puno y la muestra de cúrcuma se adquirió en el Jr. Lima N° 231 alrededor del mercado Santa Bárbara de la ciudad de Juliaca en horas de la tarde en la sección de especerías.

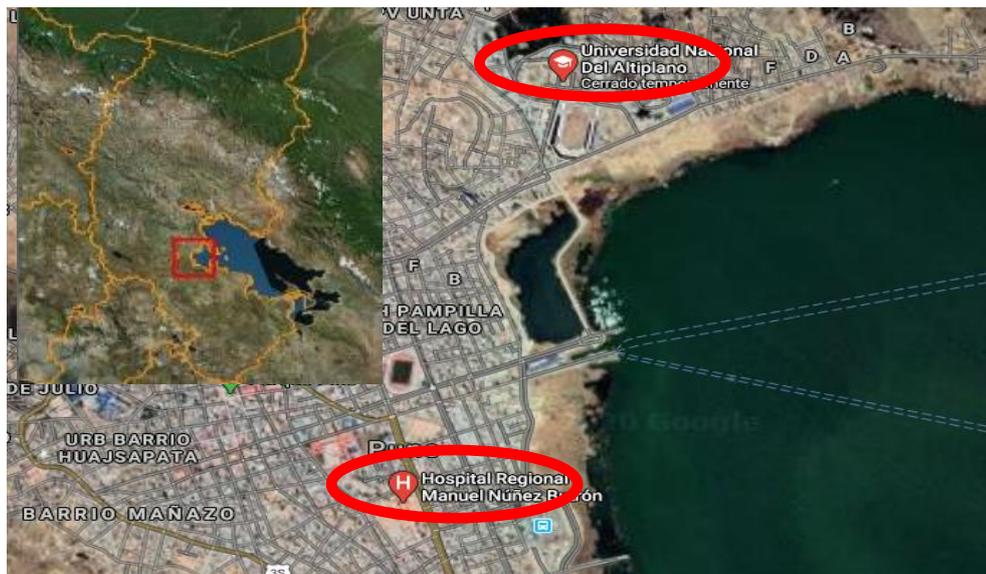


Figura 7: Zona de aislamiento de la cepa de Candida albicans, Hospital Regional Manuel Nuñez Butrón, y ejecución del proyecto Universidad Nacional Del Altiplano Puno, Durante los meses de Diciembre del 2019 hasta el mes de febrero del 2020.



3.2. TIPO DE ESTUDIO

Experimental.- porque se utilizó técnicas de cultivo en agar que son inoculados con cepas de *Candida albicans* a los cuales se les aplicó discos con el extracto de cúrcuma *Curuma longa* en diferentes concentraciones, un control positivo (fluconazol) y un control negativo (agua destilada) midiendo el grado de efectividad anti fúngico de cada una de ellas.

3.3. POBLACION Y MUESTRA

Muestra biológica

- Cepa de *Candida albicans*
- Extracto de cúrcuma *Curuma longa*.

Variables a estudiar:

Variable independiente: extracto de cúrcuma *Curuma longa* al 35%, 50%, 65%, 80%, 100%.

Variable dependiente: Efecto anti fúngico *in vitro* sobre *Candida albicans*.

3.4. DISEÑO DE INVESTIGACIÓN.

Las distribuciones de las unidades experimentales para el estudio del efecto del extracto de cúrcuma *Curuma longa* sobre la cepa de *Candida albicans*, correspondió a un diseño completamente al azar (D.C.A.) la distribución de unidades experimentales se realizó de la siguiente manera. (Tabla 1,2)



Tabla 1. Diseño del experimento, concentraciones y número de repeticiones para hallar la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI).

Extracto de cúrcuma <i>Curuma longa</i>							
repeticiones	Placa control sin tratamiento	35% de extracto de cúrcuma	50% de extracto de cúrcuma	65% de extracto de cúrcuma	80% de extracto de cúrcuma	100% de extracto de cúrcuma	total
1	1	1	1	1	1	1	6
2	1	1	1	1	1	1	6
3	1	1	1	1	1	1	6
4	1	1	1	1	1	1	6
5	1	1	1	1	1	1	6
6	1	1	1	1	1	1	6
7	1	1	1	1	1	1	6
8	1	1	1	1	1	1	6
9	1	1	1	1	1	1	6
10	1	1	1	1	1	1	6
11	1	1	1	1	1	1	6
12	1	1	1	1	1	1	6
total	12	12	12	12	12	12	72

Para determinar la actividad anti fúngica que posee dicho extracto se trabajó con 72 unidades experimentales y con 12 repeticiones por cada dosis utilizada, de igual forma se colocó una placa control sin ninguna concentración de extracto (control del crecimiento) para *Candida albicans*, de tal forma que sirvió para hallar la concentración mínima inhibitoria

Tabla 2. Diseño de la investigación para poder comparar el efecto inhibitorio in vitro de la mejor concentración inhibitoria del extracto de *Curuma longa* y el antifúngico fluconazol sobre *Candida albicans*.

	C --	C+	Extracto de cúrcuma <i>Curuma longa</i>					Total
	Agua destilada	fluconazol	35% de extracto de cúrcuma	50% de extracto de cúrcuma	65% de extracto de cúrcuma	80% de extracto de cúrcuma	100% de extracto de cúrcuma	
1	1	1	1	1	1	1	1	7
2	1	1	1	1	1	1	1	7
3	1	1	1	1	1	1	1	7
4	1	1	1	1	1	1	1	7
5	1	1	1	1	1	1	1	7
6	1	1	1	1	1	1	1	7
7	1	1	1	1	1	1	1	7
8	1	1	1	1	1	1	1	7
9	1	1	1	1	1	1	1	7
10	1	1	1	1	1	1	1	7
11	1	1	1	1	1	1	1	7
12	1	1	1	1	1	1	1	7
total	12	12	12	12	12	12	12	84

Para poder determinar su actividad anti fúngica del extracto de Cúrcuma se trabajó con 84 unidades experimentales que están conformados por 12 repeticiones, que además se utilizó un control positivo (fluconazol) y un control negativo (agua destilada) para *Candida albicans* sirviendo ambos para poder contrastar el efecto inhibitorio.



3.5. METODOLOGÍA.

3.5.1. Determinación de la Concentración Inhibitoria Mínima adecuada (35, 50, 65, 80 y 100%) del extracto de *Cúrcuma longa*, sobre la cepa de *Candida albicans*.

FASE PRE ANALITICA

a. descripción de equipos a utilizar.

Estufa Marca "O.R. L", modelo SR-0110, este equipo se usó para la incubación de los tubos y placas, calibrando la temperatura óptima para el desarrollo de los microorganismos. Autoclave Marca PINMED, Modelo YX – 280D, este equipo se utilizó especialmente para la esterilización de los materiales a utilizar en el laboratorio, evitando la contaminación. Balanza digital 600gr (0.00). Marca Kambor, se utilizó para medir el peso exacto de agar en la preparación del medio. Microscopio binocular Marca: Zeiss Modelo: DM300, este equipo se usó especialmente para la identificación de especie, observando su estructura morfológica.

b. Materiales a utilizar para el aislamiento de *Candida albicans*

Principalmente se utilizó los implementos de bioseguridad (barbijo, guantes, mandil, gorra); para la recolección de muestras se utilizó frascos estériles con tapa rosca, para el examen directo se utilizó tubos de ensayo(estériles), Laminas porta y cubre objetos(estériles), microscopio para la coloración Gram se utilizó laminas cubre y porta objetos(estériles), Kit de tinción, microscopio; para tubo germinativo se utilizó laminas cubre y porta objetos(estériles), tubos de ensayo(estériles), micro pipetas (punta estériles), asa de siembra, suero sanguíneo, microscopio; para la preparación del medio de cultivo se estilizó las placas Petri, matraz, probetas, hisopos, agua destilada; Todos los materiales que fueron esterilizados se autoclavó a 121°C por 30 minutos y entre



otros materiales como alcohol, asa de kolle, micropipetas, papel Kraft, pabito, mechero y cocinilla.

c. Materiales a utilizar para el extracto de cúrcuma *Curuma longa*

Para realizar el extracto de cúrcuma se utilizó los siguientes materiales: Papel filtro watman número 5, alcohol, perforadora, frascos pequeños con tapa rosca, lunas de reloj, pinzas, frascos caramelizados con tapa rosca, un mortero, tubos de ensayo, todos estos materiales fueron esterilizados con el autoclave a 121°C por 30 minutos.

d. Recolección de las muestras con levaduras

Para la obtención de las muestras de orina, positivas a levaduras se contó con la respectiva autorización del jefe de departamento de patología clínica y anatomía patológica del HRMNB – PUNO (ANEXO 1). Para luego ser llevadas al laboratorio de Microbiología de la Facultad de Medicina Humana y realizar el examen directo

e. Recolección y transporte de la *Curuma Curuma lonag*

Se compró la cúrcuma *Curuma longa* en la especería del alrededor del Mercado Santa Bárbara de la ciudad de Juliaca, se transportó a la ciudad de puno en frascos esterilizados y dentro de un culer se trozó en pequeños pedazos y se dejó secar aproximadamente por una semana (en la sombra),



FASE ANALITICA

a. Procedimientos para la identificación y aislamiento de la cepa de *Candida albicans*

Examen al directo

Una vez recolectadas todas las muestras en un tubo de ensayo se colocó entre 10 a 15 ml de orina, para ser centrifugada a 1500 rpm por 5 minutos, pasado ese tiempo se vertió el sobrenadante quedando 1 ml de sedimento. Golpeteando el fondo del tubo mezclamos el sedimento y con la ayuda de una pipeta se puso una gota sobre el portaobjetos y siendo cubierto con un cubreobjetos para observar al microscopio en 40x.

Preparación del agar Sabouraud Dextrosa (ASD)

Fundamento.

El medio de cultivo funciona como un medio de enriquecimiento para los hongos y al añadirle el cloranfenicol se convierte en un medio selectivo, inhibiendo así el crecimiento bacteriano, a su vez este medio contiene peptonas y mucho mayor porcentaje glucosa que beneficia el crecimiento de los hongos sobre las bacterias (MINSAs, 2007), (Cañedo & Ames, 2004)

Procedimiento.

El medio de cultivo agar sabouraud al 2% fue preparado según las instrucciones del fabricante, en un matraz conteniendo 54.6 gr de agar con 840 ml de agua destilada a un pH de 7 disueltos por 15 minutos y autoclavado a 118 – 121°C por 15 minutos, luego se vertió el medio en placas Petri a razón de un espesor de 20 ml de agar en cada placa. Se dejaron solidificar a temperatura ambiente por 15 minutos, se rotularon las placas en la parte posterior. Y por último se pasó el control de calidad incubando el medio a 37°C



por 24 horas, pasado es tiempo con la ayuda de un asa de kolle de punta redonda bien esterilizada, se sembró las muestras positivas a levaduras en Agar Sabouraud al 2% con cloranfenicol y se incubó a 37° C por 24 horas, siendo luego identificadas. (Huaracha, 2019)

Coloración Gram.

Fundamento: la tinción Gram llega a separar a las bacterias y hongos en dos grupos, y dentro de ellas tenemos a las Gram positivas que son teñidos por cristal violeta y las Gram negativas que se tiñe con el segundo colorante que es safranina, estas diferencias se pueden llegar a observar en la estructura y composición química de la pared celular, las Gram positivas presentan una pared gruesa de peptidoglicano y la Gram negativa presentan menor cantidad de peptidoglicano y su capa es delgada, pero está rodeada de una bicapa más externa de lípidos siendo a hacer su membrana externa (Olivas, 2012)

Procedimiento.

Se tomó un inóculo del cultivo puro de *Candida albicans* con el asa kolle de punta redonda para extenderlo en una lámina portaobjetos y se fijó la muestra con la flama de un mechero solo 2 o 3 pasadas, se vierte sobre la lámina cristal violeta dejándolo actuar por 1 minuto, se lava con abundante agua destilada con mucho cuidado y se procedió a cubrir el frotis con lugol dejando actuar por 1 minuto lavar con abundante agua destilada con mucho cuidado y se cubre con solución decolorante (alcohol – acetona) por 30 segundos, lavar con abundante agua destilada y cubrir con colorante de contraste (safranina) y se dejó actuar por 1 minuto y por último se lavó con abundante agua destilada con mucho cuidado y dejándola secar al aire en una posición inclinada.



Pruebas fisiológicas (Tubo germinativo)

Fundamento: Las levaduras de *Candida albicans* cuando se encuentra en contacto con suero sanguíneo humano o plasma de conejo realiza una reacción en la producción de una prolongación filamentosa que es una característica específica de la especie *albicans* y durante el tiempo de dos horas para poder observar su característica específica de *Candida albicans*. (INS, 2010)

Procedimiento:

Se suspendió un inóculo de la cepa pura de *Cándida* en 0,5 mL de suero humano o de conejo en tubos de ensayo, se puso en la incubadora a 35–37°C de 2h a 4 horas, pasado ese tiempo se Colocó 2 o 3 gotas de la suspensión en una lámina portaobjeto y se cubrió con lámina cubre objeto, por último se observó al microscopio binocular con objetivo de 40X todas las características morfológicas de *Candida albicans* (INS, 2010)

Todo esto se realizó en el laboratorio de microbiología de la facultad de Medicina Humana.

b. Procedimientos para la preparación del extracto de cúrcuma *Curuma longa*

Preparación del extracto de cúrcuma *Curcuma longa*

La cúrcuma ya seca se trituró en el mortero de porcelana templado, una vez ya molido la cúrcuma se procedió a poner la cúrcuma en un frasco caramelizado con tapa a rosca esterilizado la cúrcuma en alcohol y dejar reposar por una o dos semanas y así obtener el extracto de cúrcuma madre (Velasco, 2013).



Preparación de las concentraciones del extracto de Cúrcuma

Con la ayuda de las micropipetas automáticas se procedió a la preparación de las concentraciones del extracto de cúrcuma en la cual estará conformado de la siguiente manera:

Tabla 3: Preparación de concentraciones o tratamientos del extracto de curuma *Curcuma longa*, laboratorio de microbiología de la Facultad de Medicina Humana de La Universidad Nacional de Altiplano Puno, Durante los meses de Diciembre 2019 a febrero 2020.

Volumen del extracto de Cúrcuma	Volumen de etanol al 96°	Volumen final	Concentración (%)
0.35 ml	0.65ml	1ml	35%
0.50 ml	0.50 ml	1ml	50%
0.65 ml	0.35 ml	1ml	65%
0.80 ml	0.20 ml	1ml	80%
1 ml	0 ml	1ml	100%

Las concentraciones se les considera como tratamientos (T1, T2, T3, T4, T5) respectivamente, casi del mismo modo se preparó los controles siendo estos el fluconazol en ampolla de 2mg/ml para el control positivo (C+) y agua destilada para el control negativo (C-)



Preparación de discos

Los discos son de papel watman número 5 que fueron perforados con la perforadora (esterilizada) en una luna de reloj obteniendo el disco y fue esterilizado nuevamente con la autoclave a 121 ° C por 30 minutos.

Evaluación de la concentración mínima inhibitoria adecuada

Metodología.- el método utilizado para poder hallar la concentración mínima inhibitoria frente a la cepa de *Candida albicans* fue de difusión de disco (CLSI, 2020)

Procedimiento.

Se preparó la suspensión fúngica en un tubo de ensayo en la cual se adicionó 10 ml de solución salina estéril, la cual se agregó la colonia de *Candida albicans* con la ayuda de un asa de siembra estéril . estas suspensiones fueron ajustadas a la escala estándar de McFarland de 0.5 (CLSI, 2020), con ella se obtuvo suspensiones con una densidad micótica de $1.5 \times 10^8 \text{ UFC/ml}$ y en cada placa Petri de agar Sabouraud, con un hisopo estéril embebido en la suspensión micótica se realizó el cultivo sin dejar ninguna zona libre, se dejó secar de 3 a 5 minutos antes de depositar los discos en sus diferentes concentraciones de 35, 50, 65,80 y 100% Y por último se dejó las placas en la incubadora a 37 °C por 24 - 48horas.(Lobaina et al, 2010),(Calcina, 2020)

FASE POST ANALITICA.

Observación del examen directo.

Se seleccionó todas las muestras que con la ayuda de un microscopio a 40x se observó levaduras en los diferentes campos.

Observación macroscópica en agar Sabouraud

Se observaron colonias blanquecinas, cremosas y blandas, con bordes precisos y elevación convexa



Observación al microscopio de la coloración Gram y tubo germinativo

Para la confirmación de *Candida albicans* se hizo mediante la tinción Gram y tubo germinativo; se realizó las lecturas con las láminas recién teñidas y secadas con tinción Gram, observando gran cantidad de levaduras Gram positivas en el microscopio a 100x y con aceite de inversion, Y el tubo germinativo se observó el tubo germinal que se formó luego de una incubación de la colonia en suero sanguíneo durante 2 horas. (Zurita et al. 2017).

Evaluación de la concentración mínima inhibitoria adecuada

Para la evaluación de la concentración mínima inhibitoria se realizó midiendo los halos de inhibición fúngica (mm) con un vernier calibrado, asimismo se midió los halos en el control positivo y negativo. (Ochoa et al., 2012).

3.5.2. Comparación del efecto anti fúngico in vitro del extracto de *Curuma longa* y Fluconazol sobre la cepa *Candida albicans*.

Método a utilizar

Método empleado de kirby Bauer de concentraciones “*in vitro*”

Fundamento.

Es un método cualitativo, de crecimiento rápido y no exigente. El microorganismo es inoculado en la superficie de una placa de agar, sobre el cual se colocan discos impregnados con la concentración del antibiótico. Las placas se incuban por 16-18 horas a 35- 37°C. El diámetro del área de inhibición alrededor del disco puede ser convertido a las categorías de sensible, intermedio o resistente (S, I, o R) de acuerdo a tablas publicadas por los organismos encargados del control de tales métodos (CLSI, 2020).

Preparación de los discos de sensibilidad con fluconazol

En la preparación de nuestro control positivo fluconazol en ampolla de 2mg/ml, simplemente dejamos que los discos de sensibilidad sean embebidas por esta solución.

Y para nuestro control negativo solo se utilizó agua destilada.

Para Todas las placas de agar sabouraud previamente inoculadas con la cepa de *Candida albicans*, se colocó en la superficie los discos con el control positivo (fluconazol) e incubadas a 37°C por 24 horas y medir los halos con un vernier calibrado tanto del extracto de cúrcuma como el control positivo

Obtención de la sensibilidad del fluconazol

Para poder interpretar los resultados se realizó el siguiente cuadro estandarizado recomendado por el Instituto Estandarizado de Laboratorios clínicos “Clinical and Laboratory Standards Institute” (CLSI, 2020)

Tabla 4: Tabla de Estandarización de los halos de inhibición (mm)

ANTIGÚNGICO	MEDIDAS DE LOS HALOS		
	(mm)		
fluconazol	R*	S – DD*	S*
	≤14	15-18	≥19

Las medidas establecidas de halos de inhibición en (mm), con la concentración adecuada y en comparación del fluconazol siendo S*: Susceptible; S-DD*: Susceptible dependiente de dosis y R*: Resistente.

Análisis estadístico

En la comparación del efecto inhibitorio in vitro del extracto de cúrcuma *Curuma longa* y el antibiótico fluconazol sobre la cepa del hongo *Candida albicans*, una vez obtenidos



los resultados de la investigación, se pudo evaluar las diferencias estadísticas entre las concentraciones del extracto de cúrcuma, el control positivo (fluconazol) y control negativo, por lo tanto es por ello que se utilizó el análisis de varianza (ANDEVA) de un diseño completamente al zar (DCA). Y los valores fueron procesados en el software Estadístico InfoStat – versión 2020.

Para poder determinar las diferencias entre las concentraciones respecto a la inhibición producida en *Candida albicans*, por el efecto del extracto, asimismo se realizó la prueba estadística de comparación de medias de Duncan entre los diferentes tratamientos, el análisis de varianza se realizó utilizando el siguiente modelo lineal aditivo:

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij}$$

$i = 1, 2, \dots, t$ (tratamientos) y $j = 1, 2, \dots, r$ (repeticiones)

Y_{ij} = Variable de respuesta (halo de inhibición en mm)

μ = Promedio general

τ_i = Efecto de la i – ésima concentración del extracto de cúrcuma

ε_{ij} = Efecto del error experimental.

Las pruebas estadísticas se evaluaron:

Si el resultado es $p < 0.05$ las pruebas son significativas

Si el resultado es $p > 0.05$ las pruebas no son significativas.



CAPITULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA (CMI) DEL EXTRACTO DE CÚRCUMA *CURUMA LONGA* EN LAS CONCENTRACIONES DE 35, 50, 65, 80 Y 100% SOBRE LA CEPA DE *CANDIDA ALBICANS*,

En las cinco concentraciones de 35, 50, 65, 80 y 100%, la concentración mínima inhibitoria del extracto de cúrcuma *Curuma longa* frente a la cepa de *Candida albicans* es de 35% con un promedio del halo de inhibición de 20.33mm de las 12 repeticiones con un límite inferior de 19.98 mm y un superior de 20.67 demostrando, un efecto antifúngico del 78.01% ; seguidamente la concentración del 50% demostró un límite inferior de 21.49 mm y un superior de 22.03 mm obteniendo un porcentaje del 83.49% de inhibición fúngica, en la concentración del 65% se llega a determinar un límite inferior de 22.54 mm y un superior de 23.24 mm, con un porcentaje de 87.83%; la concentración del 80% obtuvo un límite inferior de 24.51 mm y un superior de 25.04 mm obteniendo un porcentaje de inhibición del 95.08%; y la concentración del 100% se observó un límite inferior de 24.89 mm y un límite superior de 25.50 mm, con un porcentaje inhibitorio del 96.66%; en relación al control positivo; afirmando que la t_c es mayor que la t_t , por lo tanto los datos son homogéneos y no dispersos (tabla 5)

Tabla 5: **Determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) del extracto de *Curuma longa* "cúrcuma" en diferentes concentraciones.**

	CONCENTRACION MINIMA INHIBITORIA ADECUADA DEL EXTRACTO DE <i>Cúrcuma longa</i> , sobre la cepa de <i>Candida albicans</i>						
	C+	C-	100%	80%	65%	50%	35%
REPETICIONES	12	12	12	12	12	12	12
PROMEDIO DEL HALO DE INHIBICION	26.06 mm	--	25.19 mm	24.78 mm	22.89 mm	21.76 mm	20.33 mm
LIMITE INFERIOR	25.75 mm	0.0 mm	24.89 mm	24.51 mm	22.54 mm	21.49 mm	19.98 mm
LIMITE SUPERIOR	26.28 mm	0.0 mm	25.50 mm	25.04 mm	23.24 mm	22.03 mm	20.67 mm
T calculada	214.79	--	181.99	207.46	142.86	176.36	130.90
PORCENTAJE	100%	0.0 mm	96.66%	95.08%	87.83%	83.49%	78.01%
PROBABILIDAD	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001
DIAMETRO CRITICO	sensible	---	sensible	sensible	sensible	sensible	Sensible

Espinoza & La fuente, (2017) obtuvo una concentración mínima inhibitoria del 25 y 30% obteniendo un porcentaje del 55% de cepas inhibidas con el extracto etanolico de *Curuma longa* frente a la cepa de *Candida albicans*; al igual que Rojas, et al; 2017 obtuvieron una concentración mínima inhibitoria del 25 %, en 10 repeticiones obtuvo un promedio del 85% en dicha concentración, ambos hallaron una concentración mínima inhibitoria menores al nuestro, pero Gomez, et al; 2017 demuestra en su estudio una concentración mínima inhibitoria del extracto de cúrcuma del 33.78 +-2.64%, resultados similares al nuestro

Otros estudio realizados por Cornejo, et al; 2017 y Acevedo & Gutierrez; 2017 utilizan el aceite esencial de la cúrcuma frente a la cepa de *Candida albicans* determinando que su efecto antifúngico que posee la cúrcuma es gracias a la curcumina y que su concentración mínima inhibitoria fue del 50% con un promedio de halo de inhibición



de 18.5mm y de 19.8mm respectivamente, concluyendo que el aceite esencial de la cúrcuma requiere de no muchas diluciones para que esta sea mayor eficaz en la inhibición fúngica frente a la cepa de *Candida albicans*. También Apisariyakul, et al; 1995 observó el efecto antimicótico del aceite de *Curuma longa* específicamente por uno de sus componentes que es la curcumina.

Monzioglu; 2008, quien demuestra el efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Curuma longa* y el efecto antifungico que posee dicho extracto frente a la cepa de *Candida albicans* con una concentración de 512 µg/ml cúrcuma formando un halo de inhibición de 25 mm; por otra parte Sunilson *et al*; 2009 utiliza el extracto metanólico de la *Curuma longa* al 100% sobre la cepa de *C.albicans* obteniendo un promedio del 14.8 mm de halo de inhibición.

De todo lo analizado, en nuestro estudio se demuestra que la concentración mínima inhibitoria (CMI) es de 35%, con un porcentaje del 78.01% de todas la cepas inhibidas por el extracto de cúrcuma *Curuma longa* frente a la cepa de *Candida albicans*

4.2. COMPARACIÓN DEL EFECTO ANTIFÚNGICO IN VITRO DEL EXTRACTO DE CÚRCUMA LONGA Y FLUCONAZOL SOBRE LA CEPA CÁNDIDA ALBICANS.

En la tabla 7 se observa los resultados obtenidos del efecto de inhibición del extracto de *Curuma longa* de 100%, 80%, 65%, 50%, y 35% y el control positivo frente al hongo *Candida albicans* para realizar las comparaciones del mejor efecto anti fúngico teniendo el mayor promedio de halo de inhibición en el control positivo con un promedio de 26.06 mm, en relación de la aplicación del extracto de *Curuma longa* a una concentración de 100% tiene mejor actividad anti fúngica siendo su halo de inhibición de 25.19 mm de promedio. El menor efecto anti fúngico tiene la aplicación de *Curuma longa* a una concentración de 35% con un promedio de 20.33 mm.

Tabla 6. Inhibición anti fúngico in vitro del extracto de *Curuma longa* y fluconazol sobre *Candida albicans*.

	COMPARACION DEL EFECTO ANTIFUNGICO DEL EXTRACTO DE <i>Curuma longa</i> y fluconazol, frente a la cepa de <i>Candida albicans</i>					
	fluconazol	100%	80%	65%	50%	35%
PROMEDIO DEL HALO DE INHIBICION	26.06 mm	25.19 mm	24.78 mm	22.89 mm	21.76 mm	20.33 mm
DESVIACION ESTANDAR	± 0.42	± 0.48	± 0.41	± 0.56	± 0.43	± 0.54
PORCENTAJE	100%	96.66%	95.08%	87.83%	83.49%	78.01%
DIAMETRO CRITICO	sensible	sensible	sensible	Sensible	sensible	Sensible

Sometidos los datos a la prueba estadístico de ANDEVA del efecto fungistático a las 24 horas con la aplicación de *Curuma longa* en concentraciones de 100%, 80%, 65%, 50%, 35% y control positivo, el resultado fue que la Fc es mayor que la Ft por consiguiente existe una diferencia significativa en el efecto fungistático con un C.V. de 2.02 y una probabilidad de 0.05 por lo que se sometió a una estadística de comparación de medias de Duncan con alfa= 0.05, EE=0.2262 y gl=66 entre la zona de inhibición con la aplicación de *Cúrcuma longa* en concentraciones de 100%, 80%, 65%, 50%, 35% y control positivo frente a la cepa de *Candida albicans* en relación a las demás concentraciones, seguida con la aplicación de *Curcuma longa* al 80% en relación a la concentración de 65, 50, y35%, el menor efecto fungistático se da en la concentración de 35% y en conclusión podemos decir que a mayor concentración del extracto de... mayor efecto fungistático se obtendrá.

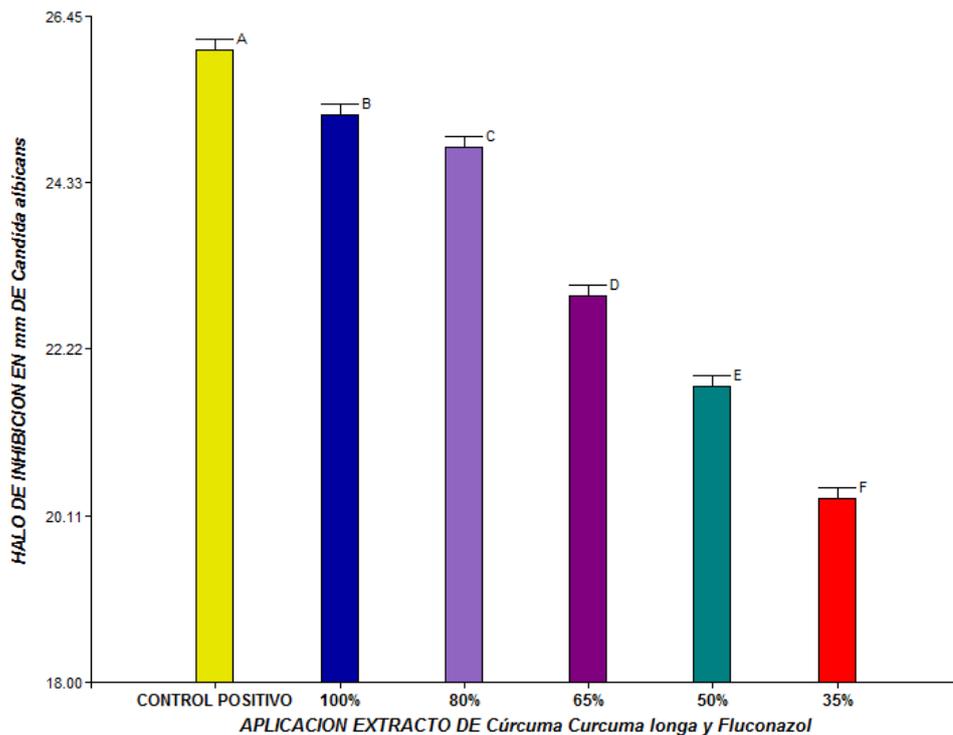


Figura 8. Prueba estadística de comparación de Duncan de la zona de inhibición con *Curuma longa* en concentraciones de 100%.80%, 65%, 50%, 35% y fluconazol sobre la cepa de *Candida albicans*.

Zurita, 2018 concluye que para poder empezar un tratamiento fúngico causado por *Candida albicans* es recomendable que empiecen utilizando el fluconazol y si el paciente muestra resistencia al fármaco es mejor cambiar a otro tipo de tratamiento y como en nuestro resultado no se observó resistencia antifúngica por parte del extracto de cúrcuma ni fluconazol es decir que ambos pueden funcionar perfectamente frente a una micosis causado por *Candida albicans*. como también Milla, 2015 y Vallejo, 2012 demostraron que el fluconazol posee un efecto antifúngico eficaz frente a la cepa de *Candida albicans* ya que el halo de inhibición promedio de Milla, 2015 fue del 33.4 mm y Vallejo obtuvo un halo de inhibición >31mm frente a la cepa de *Candida albicans*, y en nuestro estudio obtuvimos un promedio de halo de inhibición del 26.06mm, Pero en cambio en los estudio de Bustamante et al, 2017 en un hospital de lima aisló 45 cepa



de *Candida albicans*, de los cuales 17 de las cepas mostraron resistencia antifúngica al fluconazol con una medida de halo de inhibición del 11 a 13 mm, como también Rojas, 2017 obtuvo un similar resultado de la resistencia fúngica con el fármaco ya que en sus 10 repeticiones que todas las cepas se inhibieron con el extracto de cúrcuma con una concentración al 100%, pero con el fluconazol no fue eficaz la inhibición al 100% ya que observo resistencia fúngica frente al control positivo; pero en los estudios de Gomez., et al; 2012 utiliza a la cúrcuma y al fluconazol para actuar sinérgicamente para observar la sensibilidad frente a la cepa de *Cándida albicans* que fue aislado de una población inmunodeprimido y al igual que en nuestros resultados de nuestra investigación observa una inhibición fúngica eficaz por parte del extracto como del fluconazol

En cambio Neelofar et al; 2011 llega a evaluar la actividad antifúngica de la cúrcuma en 14 cepas de *Candida albicans* y concluye que la inhibición de la cúrcuma frente a la cepa de *Candida albicans* es del 70%, en comparación con su control (fluconazol) deduciendo que la cúrcuma es menos eficaz que el fluconazol.

De todo lo analizado indicamos que tanto el extracto de cúrcuma *Curuma longa* y el fluconazol ambas poseen un eficaz efecto antifungico frente a la cepa de *Candida albicans* y que ambas pueden ser utilizadas para combatir la candidiasis sin causar problema alguno.



V. CONCLUSIONES

La concentración mínima inhibitoria (CMI) es del 35% de concentración del extracto de cúrcuma *Curuma longa*, con un promedio de halo de inhibición de 20.23mm y con un efecto fungistático del 78.01% frente a la cepa de *Candida albicans*.

Al comparar del efecto antifúngico in vitro del extracto de cúrcuma *Curuma longa* y fluconazol, ambos son similares e eficaces para combatir la micosis causado por *Candida albicans* ya que su mayor efecto fungistático fue del 96.66%, con un promedio de halo de inhibición de 25.29mm en relación al control positivo (Fluconazol) con un promedio de halo de inhibición de 26.06mm.



VI. RECOMENDACIONES

- A los nuevos investigadores para que puedan realizar estudios de la concentración mínima inhibitoria en menores concentraciones del 100,80,65,50 y 35% del extracto de *Curuma longa*, sobre la cepa de *Candida albicans*. Y no solo utilizando el extracto de cúrcuma, sino también hagan la eficacia antifungica del aceite esencial de la *Curuma longa* in vitro
- Los nuevos tesis e investigadores que puedan realizar investigaciones comparando la eficacia del extracto de cúrcuma *Curuma longa* y dos fármacos más utilizados como el fluconazol y clotrimazol frente a la cepa de *Candida albicans*.



VII. REFERENCIAS

- Acevedo A. y Gutierrez T. (2017) determinación de la actividad antimicrobiana in vitro del aceite esencial extraído de la raíz de cúrcuma longa (curcumina) en *Cándida albicans*, *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. Biblioteca digital – dirección de sistemas de información y comunicación Trujillo- Peru.
- Aguirre, A., William, Y., Toribio, G., & Paolo, C. (2017). *actividad antimicrobiana antimicrobiana in vitro del aceite esencial extraido de la raiz de curcuma longa (curcuma) en candida albicans, Staphylococcus aureus y Escherichia coli*. Trujillo - Perú: Universidad nacional de Trujillo.
- Alexandra J. Velasco C. Vanegas P., M. M. (2017). *Aceite esencial de curcuma (Curcuma longa L.) como agente antifungico en recubrimientos comestibles aplicados a zapallo (Cucurbita maxima) minimamente procesado*.
- Angulo. (2003). *Generalidades de la micología*. elsevier.
- Apisariyakul A., et al (1995) Antifungal activity of turmeric oil extracted from *Curcuma longa*
- Arenas. (2014). *micología médica ilustrada*. españa: elsevier.
- Bustamante B, Martins M, Bonfietti L, Szeszs M, Jacobs J, Garcia C, et al. Species distribution and antifungal susceptibility profile of *Candida* isolates from bloodstream infections in Lima, Perú. *J Med Microbiol*. 2014; 63, 855–860. doi: 10.1099/jmm.0.071167-0.
- Calsina Zapana Richar Rene (2020). *efecto antimicótico in vitro de decocciones e infusiones de minthostachys setosa y xanthium catharticum en diferentes*



concentraciones sobre Candida albicans 2017. Universidad Nacional del Altiplano-Puno

Carril, E. P. (2014). Curuma longa. *REDUCA*.

Cañedo, V., & Ames, T. (2004). Manual de Laboratorio para el Manejo de Hongos Entomopatógenos. Centro Internacional del Papa (CIP). Lima, Perú, 62pp

Casanova, E. P. (2018). *efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de las raíces de zingiber officinale roscoe(kion) y Curcuma longa L. (palillo) frente a la cepa de Staphylococcus aureus*. Lima - Perú: Universidad Inca Garcilaso de la Vega.

CLSI. (2020). *performance Standards for antimicrobial Suceptibility testing*. USA : ClinicL and laboratory Standards Institute.

Colomer, M. C. (2012). Candidiasis vulvovaginal . *OFFARM*.

Cornejo, f. V. (2017). *obtencion de los principales componentes de aceites esenciales de la especie cúrcuma longa, planta de uso de medicinal en el peru, obteniudos mediante el metodo de cromatografia de gases y espectrometri de masas*. cusco: universidad inca garcilaso de la vega.

Echevarria Z.A., et al (2006) Infección del tracto urinario y manejo antibiótico, Acta Medica Peruana (23).

Farcol. (2000). *efectos farmacologicos y nutricionales de los extractos de curcuma longa y de los curcuminoides*. ndelosedede.



- Flores, A. J. (2017). *efecto antimicrobiano in vitro del extracto hidroalcoholico del rizoma de Curcuma longa(guisador), sobre Staphylococcus aureus y Candida albicans*. Perú - Trujillo: direccion de sistemas de informatica y comunicacion .
- Garza. (2012). *caracterizacion taxonomica y molecular de Candida spp, en aislados clinicos de origen bucal en pacientes sanos u diabeticos de Nuevo Leon*. Nuevo Leon: repositorio de tesis Universidad Autonoma De Nuevo Leon.
- Gomez, E. (2017). *Efecto antimicrobiano, i vitro del extracto de Curcuma longa(palillo) sobre cepas de staphylococcus aureus, escherichia coli y Candida albicans*. arequipa: universidad Catolica de santa maria.
- Gomez, G. (2012). *Curcumin acts synergistically with fl uconazole to sensitize a clinical isolate of Candida albicans showing a MDR phenotype*.
- Gonzales, V. C. (2017). *micologia clinica*. puno - Perú: Universidad Nacional del Altiplano puno.
- Gonzales, Y. C. (2015). *Marcadores moleculares específicos de Candida parapsilosis*. Universidad Autónoma De Nuevo León.
- Hernández, J. A. (2009). *Incidencia de Candida albicans en pacientes estudiadas en la Ciudad de Puebla, México. acta científica estudiantil*.
- Herrero, A. A. (2018). *Ultimos avances en las aplicaciones terapéuticas de Curcuma Longa L. y sus componentes aislados*. Brasil : Universidad complutense.
- Huaracha O. (2019) *Efecto antimicótico in vitro del aceite esencial de Cinnamoum zeylanicum "canela" sobre Candida albicans*.Universidad Nacional Del Altiplano-Puno.



INS. (2010). *Manual de procedimientos y técnicas de laboratorio para la identificación de los principales hongos oportunistas causantes de micosis humanas*. Lima - Peru.

Leonhard M., et al (2018) Antibiofilm efficacy of curcumin in combination with 2-aminobenzimidazole against single- and mixed-species biofilms of *Candida albicans* and *Staphylococcus aureus*.

Lobaina T., Zhurbenko R., Rodríguez C., Zayas Y. y Rodríguez A. (2010). Identificación de especies de *Candida* de importancia clínica con un método auxonograma modificado. *Rev. Cubana Med. Trop.* Vol. 62 (1) 48 – 57

Lorena L, A. G. (2017). *actividad biológica de tres curcuminoides de Curcuma longa (curcuma) cultivada en el quindio - colombia*. colombia .

Meza M.D.,et al (2000) Efectos farmacológicos y nutricionales de los extractos de *Curuma longa L.* y de los cucuminoides

Milla Espindola Romira (2015) efecto antifungico in vitro del extracto etanolico de la hoja de bixa orellanaL."achiote" sobre *Candida albicans* attcc10231. Universidad privada antenor orrego facultad de medicina humana trujillo - Peru.

Mozioglu E. Cikrikci S. Yilmaz H. Biological Activity of Curcuminoids Isolated from *Curcuma longa*. *Rec. Nat. Prod.* 2008; 2(1):19-24.

Murray, P. (2014). *microbiologia medica*. España: Elsevier.



- Navarro, J. V. (2013). *actividad antibacteriana in vitro del extracto hidroalcoholico de curcuma longa, mediante el metodo de maccrodilucion frente a staphylococcus aureus y escherichia coli*. Iquitos - Peru: Universidad Nacional de la amazonia peruana.
- Neelofar K, Shreaz S, Rimple B, Muralidhar S, Nikhat M, Khan L. Curcumin as a promising anticandidal of clinical interest. *Canadian Journal of Microbiology* 2011;57(3):204–210
- Olivas, E. (2012). Manual de Practicas, Laboratorio de Morena, Programa de biología. Juarez: Universidad Autónoma de Ciudad de Juarez.
- Pratap R. Jain D. Evaluation of Antimicrobial activity of Volatile Oil and total Curcuminoids extracted from Turmeric. *International Journal of Chem Tech Research*. 2011; 3(3):1172-8.
- Pineda - murillo J, A. C. (2017). Revision de la literatura y situasion de mexico y otros paises latinoamericanos. *Micoclogia MC et al*, 38-44.
- Oneyda C.L, et al (2011) Avances en la caracterización farmacotoxicológica de la planta medicinal *Curuma longa* Linn, Cuba, Revista MEDISAN 19(1).
- Palmieri., et al (2018). Los recubrimientos de oxido de grafeno previenen la formación de biopeliculas de *Candida albicans* con una liberación controlada de nanocompuestos cargados de cúrcuma.



- Peña C.W;(2016) Las especias indias de uso en la cocina española y sus beneficios para la salud, Universidad complutense.
- Puente E.E & Torres S.J (2019) EFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS RAÍCES DE *Zingiber officinale roscoe* (kion) y *Cúrcuma longa L.* (Palillo) FRENTE A CEPAS DE *Staphylococcus aureus*. Universidad Inca Garcilaso de la Vega Lima - Perú.
- Quispe, H. C. (2017). *EFECTO ANTIBACTERIANO Y ANTIFUNGICO DE DECOCCIONES DE TARWI (Lupinus mutabilis SWEET) EN Escherichia coli Y Candida albicans.* puno: universidad nacional del altiplano .
- Reynaud, (2007). Infecciones urinarias por candida DIAGNOSTICO Y TRATAMIENTO, Revist Peruana De Ginecologia Obstetricia (159-166)
- Rodriguez, P. V. (2011). identificacion de especies de levaduras del genero candida aislados de exudados vaginales de pacietes en el hospital materno German Urquidi. *Gac Med Bol.*
- Rojas F.A.(2017) Efecto antimicrobiano in vitro del extracto hidroalcohólico del rizoma de Curuma longa (Guisador), sobre *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans* Biblioteca Digital – Dirección de Sistemas de Informática y Comunicación, Perú
- Saiz P.C. (2014) Cúrcuma I (Curcuma longa L.)
- Salazar, G. E. (2019). *Micologia General.* Colombia: Universidad Catolica de Manizales.
- Sanchez, D. C. (2015). infecciones urinarias por Candida spp. Estudio de 29 pacientes en un hospital general. *Med Int Mexico*, 31: 19-24. 2020-R-UNA



Samadi F., et al (2018) Antifungal efficacy of herbs “Eficacia antifúngica de las hierbas”

Sirisidthi k.et al (2015) antithrombotic activity of turmeric (*curcuma longa*): a review,
department of pathobiology, faculty of science, rev. 102 indian journal of
agricultural research

Sobel J.D. (2007) Candidiasis vulvovaginal. Revista de Revistas Candidiasis
Vulvovaginal Saiz P.C. (2014) Cúrcuma I (Curuma longa L.) .

Vallejos Guillinta Guido & Saravia Leon natalia (2012) Actividad antifungica del
extracto etanol de Schinus molle y el fluconazol sobre el candida albians.
Uiversidad privada antenor Trujillo Perui

Veslasco J.R & Navarro C.O. (2013) ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA *in vitro* DEL
EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE *Curcuma longa* (Guisador),
MEDIANTE EL MÉTODO DE MACRODILUCIÓN FRENTE A
Staphylococcus aureus Y *Escherichia coli*. Universidad Nacional De La
Amazonia Peruana; Quito - Perú.

Sunilson J. Suraj R. Rejitha G. Anandarajagopal K. Gnana A. Promwichit P. (2009) In
vitro Antimicrobial Evaluation of Zingiber officinale, *Curcuma longa* and
Alpinia galanga Extracts as Natural Food Preservatives. *American Journal of
Food Technology*; 4(5):192-20.

Suncita. (1923). *Historia del Candida*.

Tapia, C. (2018). actualización en pruebas de susceptibilidad antifungicos. *revista chilena
de infectologia*, 144-150.



Zurita, S., Urcia, F., & Navarro, A. (2017). Manual de Procedimientos técnicos para el Diagnóstico Micológico. In Repositorio Institucional - INS. Retrieved from <https://repositorio.ins.gob.pe/bitstream/handle/INS/915/Manual> de procedimientos tecnicos para el diagnostico micoligico.

Zurita Macalupú Susana (2018) SITUACIÓN DE LA RESISTENCIA ANTIFÚNGICA DE ESPECIES DEL GÉNERO Candida EN PERÚ. Rev Peru Med Exp Salud Publica. 2018;35(1):126-31

ANEXOS



Figura 9. Obtención del rizoma de cúrcuma Curuma longa adquirido en la ciudad de Juliaca diciembre 2019



Figura 10. Secado del rizoma Curuma longa para poder moler y así poder hacer el extracto de cúrcuma



Figura 11. Maceración y filtración del extracto de cúrcuma "Curuma longa" en el laboratorio de microbiología



Figura 12. Obtención del extracto puro de Curuma longa.



Figura 13. Ddilución del extracto de cúrcuma en las diferentes concentraciones de 35, 50, 65, 80 y 100% de Curuma longa



Figura 14. Impregnación de los discos de sensibilidad de papel filtro canson con las diferentes concentraciones de 35, 50, 65, 80 y 100% del extracto de cúrcuma "Curuma longa"



Figura 15. Recolección de muestras biológicas y centrifugado de estas para poder obtener la cepa de Candida albicans



Figura 16. Agar Sabouround para el aislamiento de la cepa de Candida albicans



Figura 17. Aislamiento de la cepa de Candida albicans



Figura 18. Incubación por 2 a 4 horas del tubo germinativo



Figura 19. Observación al microscopio de Candida albicans a 40x

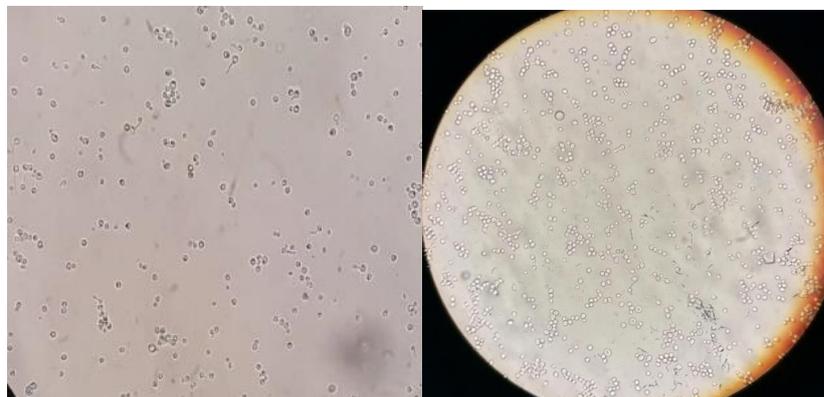


Figura 20. Observación al microscopio 40 x para Candida albicans(tubo germinativo)

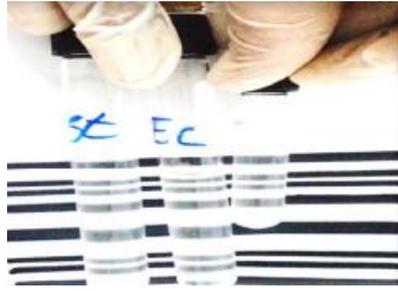


Figura 21. Comparación de la turbidez con la escala de Mac Farland

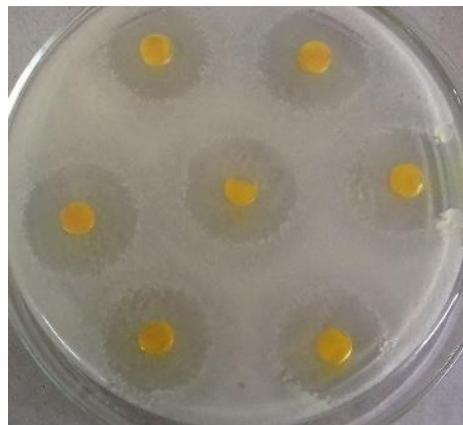


Figura 22 Halo de inhibición a una concentración de 35% de extracto de Curuma

"Curuma longa frente a la cepa de Candida albicans



Figura 23. Halo de inhibición a una concentración de 50% de extracto de Curuma

"Curuma longa frente a la cepa de Candida albicans



Figura 24. Halo de inhibición a una concentración de 65% de extracto de Curuma

"Curuma longa frente a la cepa de Candida albicans



Figura 25. Halo de inhibición a una concentración de 80% de extracto de Curuma

"Curuma longa frente a la cepa de Candida albicans



Figura 26. Halo de inhibición a una concentración de 100% de extracto de Curuma

"Curuma longa frente a la cepa de Candida albicans



Figura 27. Control positivo (fluconazol)



CONSTANCIA

EL QUE SUSCRIBE, ENCARGADO DEL LABORATORIO DE
MICROBIOLOGIA DE LA FACULTAD DE MEDICINA HUMANA

HACE CONSTAR:

Que, las Señoritas. **QUISPE MAMANI, Karin Fabiola**, identificado con DNI. 75185982 y Código de matrícula N° 143162, estudiante de la Escuela Profesional de BIOLOGÍA de la UNA- PUNO, quien ha realizado su Proyecto de Tesis titulado: **"EFECTO ANTIMICÓTICO IN VITRO DEL EXTRACTO DE LA CÚRCUMA (*Curcuma longa*) FRENTE A LA CEPA DE *Candida albicans*"**, en el Laboratorio de Microbiología de esta Facultad, en las fecha de diciembre del 2019 15 de marzo del 2020.

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

Puno, 21 de octubre del 2020

LIC. BALBINO LORGIO PALACIOS FRISANCHO



"AÑO DE LA LUCHA CONTRA LA CORRUPCIÓN Y LA IMPUNIDAD"

SOLICITO: Obtención de muestras biológicas del servicio de patología clínica "HRMNB – PUNO"

JEFE DE DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA CLINICA Y ANATOMIA PATOLOGICA -
SERVICIO DE PATOLOGIA CLINICA" HRMNB – PUNO"
DR. FRANCISCO LAJO SOTO.

Yo, **KARIN FABIOLA QUISPE MAMANI**, identificado con D.N.I. Nro: 75185982, BACHILLER EN CIENCIAS BIOLÓGICAS, Ante usted con el debido respeto me presento y expongo lo siguiente.

Mediante la presente es grato dirigirme a usted para saludarlo cordialmente y manifestarle que habiéndose aprobado mi proyecto de tesis denominado "**Efecto antimicótico de la cúrcuma (*Curcuma longa*) frente a la cepa de *Candida albicans***" y como siguiente paso es llevarlo a ejecución, es motivo por lo que solicito a usted se me pueda disponer las muestras biológicas (orinas) provenientes de consultorio externo para poder aislar la cepa de *Candida albicans*.

POR LO EXPUESTO

Ruego a ud. Señor jefe del servicio de patología clínica acceder a mi petición por ser justa y legal.

Puno, 27 de noviembre del 2019.

Atentamente

KARIN FABIOLA QUISPE MAMANI
DNI : 75185982

Recibido
28-11-19

L. Francisco A. Lajo Soto
Patología Clínica y Anatomía Patológica
JEFE DE DEPARTAMENTO
C.M.P. 19460 PUNO - 15739