



UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN  
FACULTAD DE CIENCIAS FORESTALES  
INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA VEGETAL

**EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIMICÓTICO DE EXTRACTOS DE PLANTAS  
NATIVAS CHILENAS SOBRE *Candida* spp ASOCIADA A ESTOMATITIS  
SUBPRÓTESIS.**

Tesis presentada a la Facultad de Ciencias Forestales de la Universidad de  
Concepción para optar al título profesional de Ingeniera en Biotecnología  
Vegetal

POR: Isidora Montserrat Pedrero Sánchez

Profesor Guía: Katherine Sossa Fernández

Enero, 2026

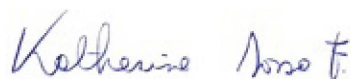
Concepción, Chile

© 2026, Isidora Pedrero Sánchez

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento

**EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIMICÓTICO DE EXTRACTOS DE PLANTAS  
NATIVAS CHILENAS SOBRE *Candida* spp ASOCIADA A ESTOMATITIS  
SUBPRÓTESIS.**

Profesor Guía



---

Katherine Sossa Fernández

Profesor Asociado

Licenciada en Biología.

Profesor Guía



---

Lorena Vergara Bastías

Colaboradora Externa

Odontóloga, Dra.

## **AGRADECIMIENTOS**

Deseo expresar mi agradecimiento al Proyecto VRID 2021000253 de la Universidad de Concepción, cuyo apoyo financiero permitió llevar a cabo esta investigación y avanzar significativamente en mi formación científica.

También agradezco profundamente a mi familia y amigos por acompañarme en este proceso con paciencia, cariño y fortaleza. Cada gesto, consejo y abrazo hicieron que este camino fuera más llevadero. Gracias por motivarme siempre, por sostenerme en los momentos de incertidumbre y celebrar conmigo cada pequeño avance. Este logro es tanto mío como suyo.

## TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN.....	IX
ABSTRACT.....	XI
INTRODUCCIÓN.....	1
I. HIPÓTESIS.....	6
II. OBJETIVOS.....	6
III. METODOLOGÍA.....	7
IV. RESULTADOS.....	16
V. DISCUSIÓN.....	37
VI. CONCLUSIONES.....	39
VII. GLOSARIO.....	40
VIII. BIBLIOGRAFÍA.....	41

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 4.1 Caracterización macroscópica de levaduras en medio SDA.....	17
Tabla 4.2 Resultados del análisis BLASTn para los aislados 5 y 7.....	20
Tabla 4.3 Compuestos fenólicos identificados en el extracto de maqui, incluyendo su clase química, tiempo de retención e intensidad de señal obtenida en el cromatograma mediante UHPLC-MS/MS. ....	21
Tabla 4.4 Compuestos fenólicos identificados en el extracto de nalca, incluyendo su clase química, tiempo de retención e intensidad de señal obtenida en el cromatograma mediante UHPLC-MS/MS. ....	22
Tabla 4.5 Diámetro de halo de inhibición de extractos de <i>A. chilensis</i> y <i>G. tinctoria</i> contra los aislados 5 y 7.....	24
Tabla 4.6 Análisis de ANOVA un factor Aislado 5 y 7.....	25
Tabla 4.7 Comparación múltiple de Tukey entre tratamientos con aislado 5.....	26
Tabla 4.8 Comparación múltiple de Tukey entre tratamientos con aislado 7.....	27
Tabla 4.9 Tabla binaria por concentración y extracto.....	30

## ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

Figura 3.1 Mapa de geolocalización de la toma de muestras de plantas nativas. Mapa escala regional de dos puntos de toma de muestras (A). Mapa de la toma de muestra de <i>Gunnera tinctoria</i> (B). Mapa de la toma de muestra de <i>Aristotelia chilensis</i> (C). Elaboración propia.....	10
Figura 3.2 Diagrama del método de difusión en agar. M: <i>Aristotelia chilensis</i> (maqui); N: <i>Gunnera tinctoria</i> (nalca); /: Agua destilada estéril; +: Nistatina; -: Alcohol (solvente). Elaboración propia.....	14
Figura 4.3 Colonias de levaduras en medio SDA. (a) Aislado 5; (b) Aislado 7..	16
Figura 4.4 Tinción de los aislados de levaduras vistas en microscopio 100x. Aislado 5 (a) y (b). Aislado 7 (c) y (d).....	18
Figura 4.5 Electroforesis de muestras de pacientes. Agarosa al 1%; Voltaje a 70v; 35min (tiempo de corrida); Marcador de peso 1Kb.....	19
Figura 4.6 Electroforesis de los productos de la PCR. Agarosa al 1.5% Voltaje a 70v; 35min (tiempo de corrida); Marcador de peso de 100-3,000bp.....	20
Figura 4.7 Antibiograma de microorganismos aislados de pacientes con estomatitis subprotesis en medio SDA. (a) Aislado 5; (b) Aislado 7; M: <i>A. chilensis</i> (maqui), N: <i>G. tinctoria</i> (nalca); +: Nistatina (control positivo); -: Alcohol (control negativo); /: Agua destilada estéril (control neutro).....	24
Figura 4.8 CMI Aislado 5. (a) <i>G. tinctoria</i> (nalca); C1: 100 mg/mL; C2: 50 mg/mL; C3: 25 mg/mL; C4: 12.5 mg/mL; C5: 6.25 mg/mL; C6: 3.125 mg/mL. (b) extracto de <i>A. chilensis</i> (maqui). C1: 100 mg/mL; C2: 50 mg/mL; C3: 25 mg/mL; C4: 12.5 mg/mL; C5: 6.25 mg/mL; C6: 3.125 mg/mL; A: Solvente; N: Nistatina.....	29
Figura 4.9 CMI Aislado 7. (a) <i>G. tinctoria</i> (nalca); C1: 100 mg/mL; C2: 50 mg/mL; C3: 25 mg/mL; C4: 12.5 mg/mL; C5: 6.25 mg/mL; C6: 3.125 mg/mL. (b) extracto de <i>A. chilensis</i> (maqui). C1: 100 mg/mL; C2: 50 mg/mL; C3: 25 mg/mL; C4: 12.5 mg/mL; C5: 6.25 mg/mL; C6: 3.125 mg/mL; A: Solvente; N: Nistatina.....	29

## RESUMEN

La estomatitis subprótesis es una de las enfermedades bucales más comunes en personas mayores que utilizan prótesis removibles. Se caracteriza por la inflamación de la mucosa del paladar y está principalmente relacionada con la presencia de *Candida albicans*, y en menor grado, *Candida no-albicans*. Los tratamientos tradicionales, como la nistatina, tienen limitaciones debido a la resistencia fúngica, efectos secundarios y la posibilidad de que la infección regrese, lo que motiva la búsqueda de opciones naturales de tratamiento. En este contexto, se investigó el efecto antifúngico de los extractos de *Aristolelia chilensis* (maqui) y *Gunnera tinctoria* (nalca) contra aislamientos clínicos de *Candida* spp. mediante pruebas de difusión en agar y la medida de la concentración mínima inhibidora (CMI), con el respaldo de análisis estadísticos (ANOVA y prueba de Tukey). La identificación molecular reveló la presencia de *Candida glabrata* en las muestras clínicas, mientras que los extractos se obtuvieron por extracción con etanol y se caracterizaron químicamente identificando sus compuestos bioactivos. En las pruebas de difusión, el aislado 5 no mostró diferencias significativas entre maqui, nalca y nistatina ( $p > 0,05$ ), mientras que en el aislado 7, *G. tinctoria* mostró una mayor inhibición, comparable con nistatina. Las cifras de CMI indicaron que *G. tinctoria* tenía más potencia, con concentraciones de 25 a 50 mg/mL, en comparación con *A. chilensis*, que mostró inhibición entre 50 y 100 mg/mL, ambos extractos presentaron actividad

antifúngica, destacándose *G. tinctoria* por su mayor efectividad contra *C. glabrata*.

## ABSTRACT

Denture stomatitis is one of the most common oral diseases in older adults who use removable dentures. It is characterized by inflammation of the palate mucosa and is mainly related to the presence of *Candida albicans* and, to a lesser extent, *Candida non-albicans*. Traditional treatments, such as nystatin, have limitations due to fungal resistance, side effects, and the possibility of the infection returning, which motivates the search for natural treatment options. In this context, the antifungal effect of extracts of *Aristotelia chilensis* (maqui) and *Gunnera tinctoria* (nalca) against clinical isolates of *Candida* spp. was investigated using agar diffusion tests and measurement of the minimum inhibitory concentration (MIC), supported by statistical analysis (ANOVA and Tukey's test). Molecular identification revealed the presence of *Candida glabrata* in the clinical samples, while the extracts were obtained by ethanol extraction and chemically characterized by identifying their bioactive compounds. In diffusion tests, isolate 5 showed no significant differences between maqui, nalca, and nystatin ( $p > 0,05$ ), while in isolate 7, *G. tinctoria* showed greater inhibition, comparable to nystatin. The MIC figures indicated that *G. tinctoria* was more potent, with concentrations of 25 to 50 mg/mL, compared to *A. chilensis*, which showed inhibition between 50 and 100 mg/mL. Both extracts exhibited antifungal activity, with *G. tinctoria* standing out for its greater effectiveness against *C. glabrata*.

## INTRODUCCIÓN

La población mundial está experimentando un envejecimiento progresivo que afecta a nivel celular, tisular y orgánico, lo que plantea múltiples desafíos en el ámbito de la salud. Dentro de estos, la salud bucal adquiere especial relevancia. En Chile, la Encuesta Nacional de Salud 2016-2017 evidenció que solo el 22,5 % de los adultos mayores de 65 años conserva una dentición funcional ( $\geq 20$  dientes), mientras que el 77,5 % presenta una dentición no funcional, lo que conlleva una alta dependencia de prótesis dentales removibles (Ministerio de Salud 2018). Este escenario refleja no sólo la pérdida de piezas dentales en este grupo etario, sino también la necesidad de preservar la funcionalidad masticatoria, la estética y la calidad de vida.

El uso de prótesis dentales parciales o totales removibles es una práctica habitual para compensar la ausencia de dientes, proporcionando beneficios funcionales y estéticos. Sin embargo, su uso prolongado puede generar efectos adversos. El contacto constante entre la base de la prótesis y la mucosa oral puede inducir agresiones mecánicas, como presión, tracción y fricción sobre los tejidos blandos, lo que puede desencadenar procesos inflamatorios crónicos (González Beriau, *et al.* 2017). Esta condición inflamatoria se conoce como estomatitis subprótesis, caracterizada por la inflamación de la mucosa oral (encías, paladar, lengua y mejillas) comúnmente asociada al uso de prótesis removibles,

especialmente cuando están mal ajustadas. Clínicamente, se clasifica en tres tipos: tipo I (inflamación leve con puntos eritematosos), tipo II (inflamación difusa) y tipo III (inflamación papilomatosa severa) (Ayuso Montero, *et al.* 2004).

Numerosos estudios han demostrado que la estomatitis subprótesis se asocia estrechamente con la colonización por especies del género *Candida*. En una investigación realizada en Brasil, se aislaron levaduras en el 89 % de los casos de usuarios de prótesis con estomatitis subprótesis, siendo *Candida albicans* la especie predominante, seguida por *C. famata* y *C. tropicalis* (Gauch, *et al.* 2018). Factores como la higiene deficiente, el uso nocturno de la prótesis, su antigüedad y la condición sistémica del paciente son determinantes en esta colonización. La candidiasis oral, causada principalmente por *C. albicans*, afecta especialmente a personas inmunocomprometidas y se caracteriza por la formación de un biofilm en la mucosa oral, que puede convertirse en un foco persistente de infección si no se trata adecuadamente (Panizo and Reviákina 2001). Investigaciones más recientes han identificado otras especies implicadas, como *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. krusei* y *C. dubliniensis*, las cuales presentan variaciones en su sensibilidad a los antifúngicos (Khan, *et al.* 2019, Gleiznys, *et al.* 2015).

Entre los tratamientos convencionales, destaca la nistatina, un antimicótico poliénico de uso tópico que actúa desestabilizando la membrana fúngica. Sus

principales ventajas es su alta eficacia local y su baja absorción sistémica, lo que la hace segura para adultos mayores polimedicados. No obstante, presenta limitaciones como la necesidad de múltiples aplicaciones diarias, posee un sabor desagradable y baja efectividad frente a infecciones profundas o sistémicas. Además, algunas cepas no-*albicans* pueden mostrar resistencia a este fármaco (Gavilanes Sánchez, *et al.* 2024).

La búsqueda de terapias alternativas ha impulsado el estudio de estrategias como la terapia fotodinámica antimicrobiana (PDT) y el láser de baja potencia (Fernández González, *et al.* 2015). En un estudio la PDT resultó tan eficaz como la nistatina para el tratamiento de la estomatitis subprótesis, el efecto fue eficaz en los paladares, en donde *Candida albicans* fue la especie más prevalente, seguida por *C. tropicalis* y *C. glabrata*. Una de las alternativas que se han estado estudiando es el láser de baja potencia el cual ha mostrado beneficios como la reducción de la inflamación palatina, disminución de la carga fúngica y estimulación de la reparación tisular; sin embargo, si bien ya se está utilizando en pacientes su efectividad depende del estado de la infección y su eficacia se encuentra en estudios experimentales y depende de la dosis (Maver-Biscanin, *et al.* 2005).

Como nueva alternativa, diversos estudios han explorado el potencial antifúngico de extractos vegetales frente a *Candida* spp., especialmente ante el aumento de

cepas resistentes (Rawal, *et al.* 2024) evaluaron extractos de Tulsi (*Ocimum sanctum*), ajo (*Allium sativum*), canela (*Cinnamomum verum*) y limoncillo (*Cymbopogon citratus*) frente a *Candida albicans*, empleando técnicas de difusión en disco y microdilución en caldo. Los hallazgos indicaron que Tulsi mostró ser el extracto más eficaz, con una Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de 0,3 – 0,5 %, mientras que los demás extractos también mostraron actividad, aunque a mayores concentraciones. Estos efectos se atribuyen a compuestos bioactivos como eugenol, alicina, cinamaldehído y citral, que alteran la integridad de la membrana fúngica e interfieren en procesos metabólicos esenciales.

En Chile, también se han investigado plantas nativas con potencial antimicrobiano. *Gunnera tinctoria* (nalca) ha sido objeto de investigación debido a la riqueza de compuestos fenólicos presentes en sus órganos (Zamorano, *et al.* 2018). Un estudio reciente evaluó extractos etanólicos de pecíolo, raíz y flor frente a *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*, encontrando que la raíz presentó la mayor actividad antibacteriana, especialmente contra *P. aeruginosa*. Se identificaron compuestos como ácido cafeico, cinámico y gálico, además de flavonoides como quercetina y rutina (Velásquez, *et al.* 2021).

Asimismo, extractos foliares de *Aristotelia chilensis* (maqui) y *Ugni molinae* (murta) han sido evaluados como agentes antioxidantes y antimicrobianos. Un estudio realizado el año 2009, donde se realizaron extractos mediante el método Soxhlet y estandarizados en equivalentes de ácido gálico, se analizó la capacidad antioxidante (prueba de DPPH) y actividad antimicrobiana frente a *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Enterobacter aerogenes* y *Candida albicans*; los resultados mostraron inhibición total del radical DPPH y halos de inhibición superiores a 20 mm, además de estabilidad fisicoquímica y microbiológica en formulaciones cosméticas durante seis meses, lo que respalda su potencial como conservantes naturales (Avello, *et al.* 2009).

A pesar de la gran diversidad de flora nativa chilena, solo una fracción ha sido estudiada con fines medicinales. Las investigaciones existentes han revelado propiedades antimicrobianas, antiinflamatorias, antioxidantes, anticancerígenas y biocidas (Obando-Camino, *et al.* 2020). Estas características, sumadas a su baja toxicidad y escasos efectos secundarios, convirtiéndose en una alternativa prometedora frente a los antimicrobianos sintéticos. En este contexto, el creciente interés por la medicina tradicional mapuche impulsa la valorización de estos conocimientos ancestrales como base para el desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas.

## I. HIPÓTESIS

Extractos de las plantas nativas chilenas *Gunnera tinctoria* (nalca) y *Aristolelia chilensis* (maqui), inhiben el crecimiento de *Candida* spp. aisladas de pacientes portadores de prótesis parcial removible con estomatitis subprótesis.

## II. OBJETIVOS

### Objetivo General

Evaluar el efecto de los extractos de plantas nativas chilenas *Gunnera tinctoria* (nalca) y *Aristolelia chilensis* (maqui) sobre *Candida* spp. aisladas de pacientes portadores de prótesis parcial removible.

### Objetivos Específicos

- Identificar *Candida* spp de pacientes portadores de prótesis parcial removible.
- Evaluar la actividad inhibitoria de los extractos de *plantas* nativas sobre *Candida* spp.

### III. METODOLOGÍA

#### 3.1 Toma de muestras de microorganismos

Se tomaron 4 muestras en 10 pacientes pertenecientes a la región del Biobío, portadores de prótesis parcial removible, dicha toma se realizó en el centro de Odontología de la Universidad de Concepción, con una previa firma de consentimiento informado por parte de los pacientes para la realización de dicha toma. Se utilizó una tórula esterilizada, la que se introdujo en la boca, recorriendo la mucosa bucal (encías, lengua, mejillas y paladar), luego la tórula fue introducida a un tubo previamente rotulado con el número de muestra y fecha, siendo guardado a 4°C para su posterior aislamiento.

#### 3.2 Aislamiento de microorganismos

Posteriormente a la toma de muestras, estas fueron llevadas al laboratorio de Biopelículas y Microbiología Ambiental del Centro de Biotecnología para aislar los microorganismos. La tórula con la muestra se sembró en 3 ml de un medio Tryptic Soy Broth (TSB), luego el tubo fue agitado en un vórtex por 1 minuto aproximadamente, posterior a eso se realizó la dilución seriada, traspasando 100 µL de muestra en 900 µL de solución salina tamponada con fosfato (PBS) sucesivamente hasta la dilución 1/1000 (García-Valdés 2009-2010)

Para aislar levaduras se sembró 100 µL de cada dilución de la muestra en medio Sabouraud dextrosa agar (SDA) y adicionado con el antibiótico Cloranfenicol a la concentración de 0,4 g/L. Posteriormente las muestras se incubaron a 27°C por 48 horas, todas las diluciones se sembraron en triplicados.

Se seleccionaron distintas colonias aisladas para generar el cepario. Para esto primero se tomó una muestra con una pipeta Pasteur y se sembró en Sabouraud dextrosa agar (SDA), sin el antibiótico, dejando incubar por 48 horas a 27°C. A partir de estas placas se seleccionó colonias aisladas y fueron sembradas en Tryptic Soy Broth (TSB), incubando por 16 horas a 27°C en agitación, a partir de este cultivo se generó el cepario en un tubo criogénico que contenía 500 µL de stock de glicerol al 70 % más 1000 µL de la muestra (Arencibia, *et al.* 2008). También se realizó caracterización macroscópica de las colonias y microscópica.

### 3.3 Identificación molecular de *Candida* spp.

Se realizó extracción de ADN a los dos aislados con el kit DNeasy PowerSoil Pro según protocolo (Goller 2022). La determinación de pureza y concentración de ADN se evaluó mediante espectrofotometría en un equipo NanoDrop™. Para ello, se midió la absorbancia a 260, 280 y 230 nm, obteniéndose las relaciones A260/280 y A260/230 con el fin de determinar la presencia de posibles

contaminantes como proteínas, compuestos fenólicos o sales (Desjardins and Conklin 2010), para posteriormente realizar electroforesis y visualizar la calidad.

Para la reacción de PCR se utilizaron partidores ITS1 (5' - TCC GTA GGT GAA CCT GCG G - 3') e ITS4 (5' - TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC - 3') para la identificación de levaduras a nivel de género (Ramirez and de la Torre 2008). Las condiciones del Thermal Cycler fueron: desnaturalización inicial 95 °C por 10 minutos, seguida de 31 ciclos, de desnaturalización a 95 °C por 30 segundos, alineamiento a 56 °C por 30 segundos, extensión a 72 °C por 30 segundos, extensión final a 72 °C por 10 minutos y una mantención a 4 °C ∞, para la confirmación que la extracción fue exitosa. El producto de PCR fue secuenciado en Macrogen, Inc. Corea (<http://www.macrogen.com>). Finalmente, las secuencias se analizaron usando Basic Local Alignment Search Tool (BLAST, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blastn>) y comparadas con secuencias obtenidas desde GenBank.

#### 3.4 Toma de muestras de plantas nativas chilenas

Se tomaron muestras entre julio-agosto de hojas de las plantas nativas chilenas *Gunnera tinctoria* (nalca) la cual se obtuvo de la Región del Biobío específicamente a los alrededores de la Cantera de Lonco 36°52'06.8"S 73°01'32.2"W y *Aristotelia chilensis* (maqui) se tomó en la Región de Ñuble a los

alrededores de la laguna Santa Elena, Bulnes 36°48'00.12"S 72°23'09.45"O (figura 3.1), fueron seleccionadas las hojas que se encontraban en buen estado.

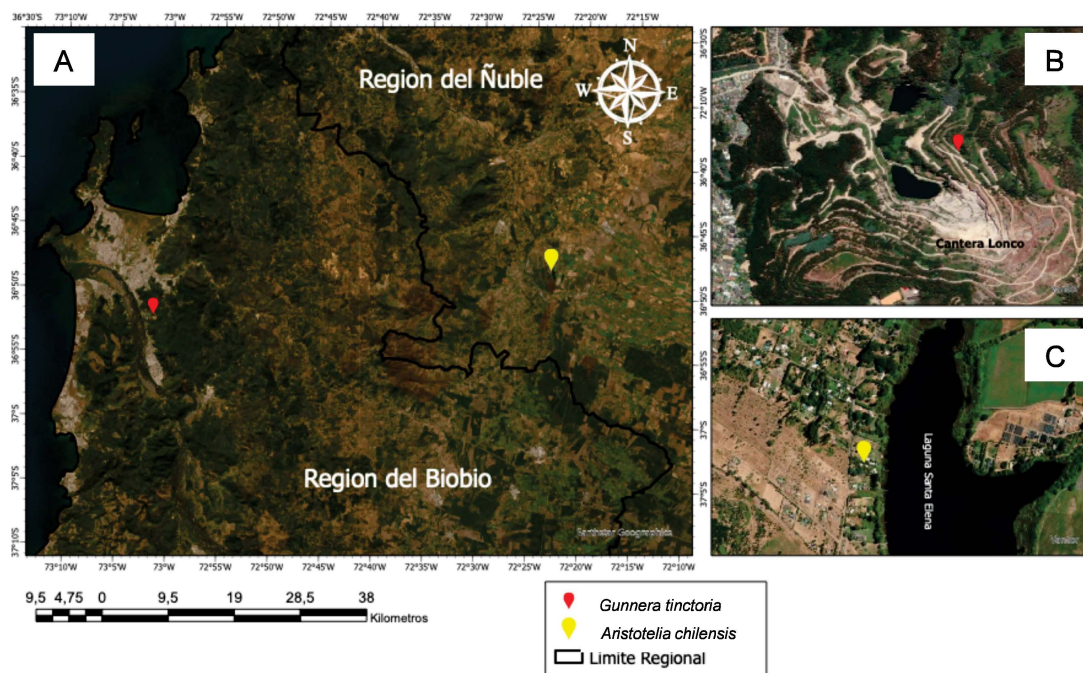


Figura 3.1 Mapa de geocalización de la toma de muestras de plantas nativas. Mapa escala regional de dos puntos de toma de muestras (A). Mapa de la toma de muestra de *Gunnera tinctoria* (B). Mapa de la toma de muestra de *Aristolelia chilensis* (C). Elaboración propia.

### 3.5 Obtención de los extractos de plantas nativas chilenas

Una vez tomadas las muestras, se subdividieron para su secado en estufa por 24 horas a 36° C, fueron llevadas al Laboratorio de la Facultad de Ciencias Naturales y Oceanografía. Para la obtención de los extractos, las hojas fueron trituradas,

agregando una solución de etanol sin diluir, duplicando su volumen, siendo tapado con papel aluminio por su sensibilidad a la luz, dejando reposar por 1-2 días a temperatura ambiente, después fue filtrado el solvente, dicho proceso se realizó 3 veces (Duarte Trujillo, *et al.* 2020). El solvente obtenido en la maceración fue pasado por rotavapor marca Heidolph Laborota 4001 a una temperatura de 40°C para separar el solvente del extracto y así obtener el extracto total.

### 3.6 Caracterización de los extractos

Para la caracterización química, los extractos previamente obtenidos mediante maceración y trituración fueron pesados (1 mg) y transferidos a frascos, a los cuales se les añadió etanol. Tras un período de extracción de 48 horas, los solventes fueron recuperados y las muestras enviadas al Laboratorio de la Facultad de Ciencias Naturales y Oceanografía para su análisis el cual se llevó a cabo utilizando un sistema de cromatografía líquida de alta resolución unido a espectrometría de masas en tándem (UHPLC-MS/MS). Se utilizó un equipo Shimadzu LC-40D XR, que incluye una bomba binaria (LC-40D XR), un muestreador automático refrigerado (SIL-40C XR), un horno para la columna (CTO-40C) y un controlador del sistema (CBM-40), conectado a un espectrómetro de masas QTRAP® 4500 (AB Sciex), dotado de una fuente de ionización por electrospray (ESI) que trabaja en modo de ionización positiva (TurboSpray®).

Las condiciones para la cromatografía y la espectrometría de masas fueron las que mencionan (Oesterle, et al. 2022) (<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0003267022005487>), con la única variación siendo el uso de una columna cromatográfica Halo C18 (75 × 4,6 mm, 2,7 μm), junto con una precolumna de especificaciones similares. Antes de proceder con el análisis, los extractos metanólicos fueron filtrados utilizando filtros de PTFE de 0,22 μm antes de ser inyectados.

### 3.7 Actividad antifúngica

Para la preparación de los discos con papel filtro, estos fueron esterilizados e impregnados con los extractos de las plantas nativas: *Aristolelia chilensis* (maqui) se usó 14 μL obteniendo una potencia del disco de 10 mg; para *Gunnera tinctoria* (nalca) se usaron 7 μL, obteniendo una potencia de disco de 10 mg, también se utilizaron discos con nistatina como control positivo, el cual fue preparado con 2 mg/mL de nistatina en dimetilsulfóxido (DMSO) agregando 7 μL con una potencia de disco de 14 mg, etanol como control negativo 7 μL con potencia de 5,3 mg (sin diluir) y agua estéril como control neutro 7 μL con potencia de 7 mg.

### 3.7.1 Evaluación de inhibición de crecimiento.

La evaluación de la actividad antifúngica de las levaduras, se evaluó por medio de difusión en agar (antibiograma) (Bauer, *et al.* 1966). En un tubo de ensayo con 3ml de TSB se le agregó inóculo obteniendo una suspensión al 0,5 del estándar McFarland, lo que equivale aproximadamente a  $1,5 \times 10^8$  UFC/ml (unidades formadoras de colonias por mililitro). Se sembró con una tórula esterilizada en medio SDA, cubriendo toda la placa con la muestra.

A estas placas sembradas con las levaduras, se les puso de forma equidistantes los sensidiscos con extractos de maqui, nalca, nistatina, solvente y agua, las que se realizaron en triplicados y fueron incubadas a 27°C por 48 h (figura 3.2), en donde se midió el diámetro de la zona de inhibición de crecimiento de las levaduras, siendo un indicador semicuantitativo de la efectividad de la sustancia testada para inhibir el crecimiento (Herrera 1999).

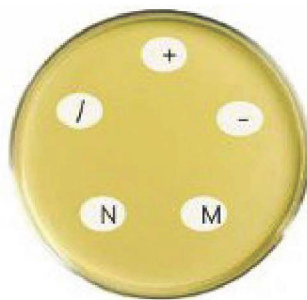


Figura 3.2 Diagrama del método de difusión en agar. M: *Aristotelia chilensis* (maqui); N: *Gunnera tinctoria* (nalca); /: Agua destilada estéril; +: Nistatina; -: Alcohol (solvente). Elaboración propia.

### 3.7.2 Evaluación de la concentración mínima inhibitoria (CMI)

Al igual que en el ensayo anterior, en un tubo de ensayo con 3 ml de TSB se le agregó inóculo de la muestra obteniendo una suspensión al 0,5 del estándar McFarland, para ser utilizada posteriormente. Se dispusieron microplacas de 24 pocillos, para cada extracto, se hicieron 6 concentraciones distintas al 100, 50, 25, 12,5, 6,25 y 3,125mg/ml, en donde en un tubo de ensayo se le agregaron 2 ml de Medio SDA y cada concentración de extracto utilizada, luego se fue agregando a los pocillos, también se utilizó como control positivo Nistatina con una concentración de 2 mg/mL y etanol (solvente) como control negativo el cual se utilizó sin diluir, finalmente se agregaron 10  $\mu$ L de la muestra a cada pocillo y fueron incubadas a 27°C por 48 h. Dicho ensayo se ejecutó en triplicado a excepción del control positivo y negativo. La CMI se midió en donde en la menor concentración no se observa crecimiento microbiano visible.

## 2.8 Análisis estadístico

Para la evaluación de la actividad antifúngica obtenida del antibiograma se realizó un análisis de ANOVA de un factor, con el fin de determinar si existe una diferencia significativa entre los extractos ( $p < 0,05$ ) si existe una diferencia significativa se realiza una prueba de Tukey para identificar específicamente que grupos difieren entre sí. En el caso de la concentración mínima inhibitoria (CMI) la interpretación se realizó mediante un análisis visual de crecimiento microbiano, evaluando la presencia o ausencia de crecimiento en las microplacas.

## IV. RESULTADOS

### 4.1 Aislamiento y caracterización de microorganismos.

#### 4.1.1 Caracterización macroscópica

En este estudio se analizaron 10 muestras con 4 replicas por paciente, solo en 2 pacientes se aisló levaduras (Figura 4.3), posteriormente a estos aislados se les realizó una caracterización fenotípica de colonias (Tabla 4.1).

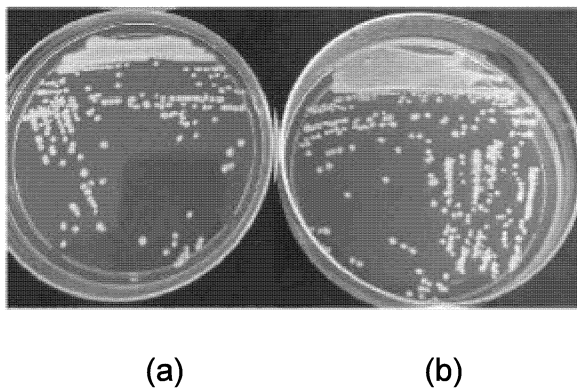


Figura 4.3 Colonias de levaduras en medio SDA. (a) Aislado 5; (b) Aislado 7.

Tabla 4.1 Caracterización macroscópica de levaduras en medio SDA.

Aislado	Tamaño	Forma	Borde	Elevación	Superficie
5	Pequeño	Circular	Entero	Convexa	Lisa, Brillante
7	Pequeño	Circular	Entero	Convexa	Lisa, Brillante

Se clasificaron los morfotipos dependiendo de 5 características, en donde los resultados de los aislados 5 y 7 son idénticos, coincidiendo con las características del morfotipo *Candida* spp. es un hongo el cual en medio SDA se desarrolla formando colonias blancas, cremosas y lisas (Silva, *et al.* 2012).

#### 4.1.2 Caracterización macroscópica

Se realizaron tinción en las muestras de levaduras cultivadas en placas Petri con medio SDA, logrando visualizar que las dos muestras se tiñen de color azulado, comparadas con bibliografía se puede observar una similitud a las observaciones de *Candida albicans* al microscopio (figura 4.4), debido a su tamaño, forma y cómo se agrupan (Ccorahua 2018).

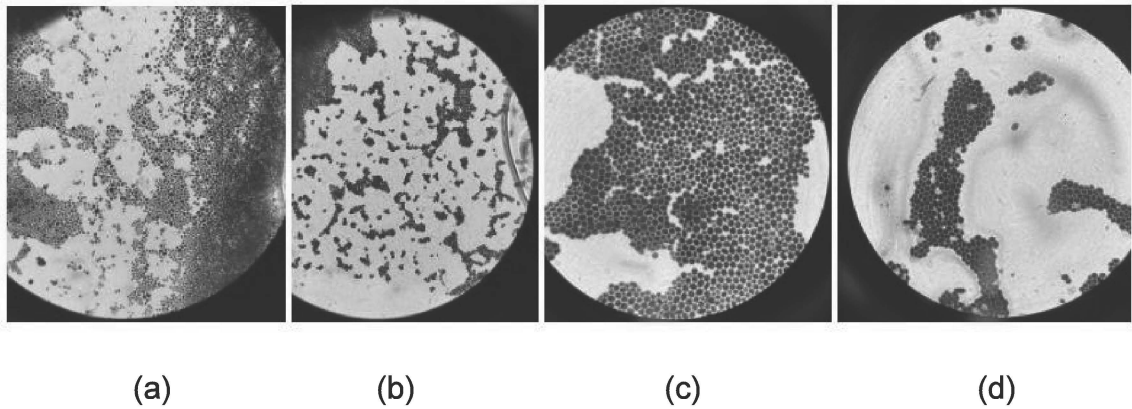


Figura 4.4 Tinción de los aislados de levaduras vistas en microscopio 100x. Aislado 5 (a) y (b). Aislado 7 (c) y (d).

#### 4.2 Identificación molecular

Las muestras que se obtuvieron se les realizó extracción de ADN, para luego realizar electroforesis a las dos muestras, ambos aislados presentan una banda única y nítida dentro del rango esperado (10.000 kb) (figura 4.5), también se les realizó el análisis de niveles de pureza, obteniendo niveles aceptables según el análisis mediante espectrofotometría UV. El aislado 5 tuvo una relación A260/280 de 1,78 y una relación A260/230 de 1,89, cifras cercanas al rango ideal esperado para ADN genómico y una concentración de 333,3 ng/μL. Por otro lado, el aislado 7 presentó una relación A260/280 de 1,75 y una relación A260/230 de 2,05 y una concentración de 353,8 ng/μL, indicando un ADN de buena calidad con una mínima contaminación.

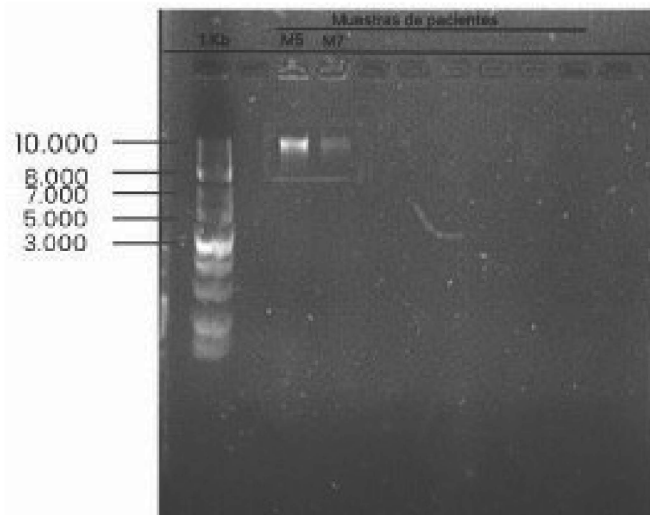


Figura 4.5 Electroforesis de muestras de pacientes. Agarosa al 1%; Voltaje a 70v; 35min (tiempo de corrida); Marcador de peso 1Kb.

Posteriormente se realizó una electroforesis con los productos de la PCR (Figura 4.6) para visualizar la amplificación de dicho ADN, del aislado 5 se obtuvieron 800 bp y del aislado 7 se obtuvo un fragmento 900 bp aproximadamente, la aparición de una sola banda por aislado sugiere que la amplificación es precisa, sin señales de productos no deseados, contaminación o deterioro del ADN.

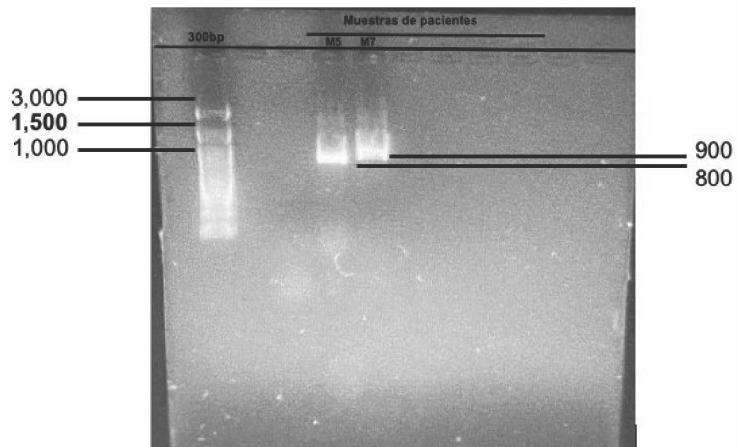


Figura 4.6 Electroforesis de los productos de la PCR. Agarosa al 1.5% Voltaje a 70v; 35min (tiempo de corrida); Marcador de peso de 100-3.000bp.

Las secuencias obtenidas fueron enviadas a Macrogen y analizadas mediante BLASTn en la base de datos GenBank, mostrando coincidencias significativas con *Nakaseomyces glabratus* (aislado cy15) (tabla 4.2). De acuerdo con literatura, *Nakaseomyces glabratus* o también llamado *Candida glabrata* presenta fragmentos de ADN amplificados con los partidores ITS1 e ITS4 que varían entre 869 - 879 pb (Fujita, *et al.* 2001).

Tabla 4.2 Resultados del análisis BLASTn para los aislados 5 y 7.

Aislado	Organismo identificado	% identidad	Cobertura (%)	Brechas (%)	E- value	Accession No.
5	<i>Nakaseomyces</i>	95	50,2	1	0,0	PQ050362.1

---

*glabratus*

aislado cy15

7	<i>Nakaseomyces</i>	89	64,3	1	0,0	PQ050362.1
---	---------------------	----	------	---	-----	------------

*glabratus*

aislado cy15

---

#### 4.3 Caracterización de los extractos de plantas nativas

Se realizó UHPLC-MS/MS para la identificación de los compuestos activos de los extractos, en el mismo solvente que fue etanol.

Tabla 4.3 Compuestos fenólicos identificados en el extracto de maqui, incluyendo su clase química, tiempo de retención e intensidad de señal obtenida en el cromatograma mediante UHPLC-MS/MS.

Compuesto	Clase de compuesto	Tiempo	Intensidad
2,6-dimetoxifenol	Fenol simple	5,83	3,0e5
Cianidina	Antocianina	6,90	6,0e5
Delfinidina	Flavonoide-Antocianidina	6,42	5,8e6
Procianidina B2	Flavonoide- Proantocianidina	5,22	9,0e4
Procianidina B1	Flavonoide-	5,23	1,28e6

Proantocianidina			
Cianidina-3-O-sambubiosida	Flavonoide-Antocianina	5,43	3,0e4
Cianidina-3-O-rutinosida	Flavonoide-Antocianina	6,66	8,7e6
Procianidina C1	Flavonoide-Proantocianidina	5,36	1,1e5

Tabla 4.4 Compuestos fenólicos identificados en el extracto de nalca, incluyendo su clase química, tiempo de retención e intensidad de señal obtenida en el cromatograma mediante UHPLC-MS/MS.

Compuesto	Clase de compuesto	Tiempo	Intensidad
2,6-dimetoxifenol	Fenol simple	6,75	2,3e4
Cianidina	Flavonoide-Antocianina	6,79	7,0e5
Delfindina	Flavonoide-Antocianidina	6,43	9,0e6
Cianidina-3-O-rutinosida	Flavonoide-Antocianidina	6,55	3,5e5

El estudio cromatográfico llevado a cabo con UHPLC-MS/MS permitió reconocer los principales compuestos fenólicos que se encuentran en los extractos de maqui y nalca, que se obtuvieron utilizando etanol. Los cromatogramas presentan

señales claras que corresponden a antocianidinas, antocianinas, proantocianidinas y fenoles simples, lo que confirma la existencia de estos metabolitos en las dos especies (tabla 4.3 y 4.4) (Zamorano, *et al.* 2018, García-Milla, *et al.* 2024). Además, el rendimiento total de los extractos mostró diferencias notables entre las plantas de las que provienen: el maqui tuvo un rendimiento de 2,33%, mientras que el nalca llegó a un 7,81%.

#### 4.4 Actividad antifúngica

##### 4.4.1 Difusión en agar (antibiograma)

El método de difusión en agar se realizó utilizando discos impregnados con los extractos de las plantas nativas en los cuales se obtuvo un peso seco de 292 g de *Gunnera tinctoria* y 357 g de *Aristotelia chilensis*, también una concentración de extracto de 1426,25 mg/mL y 693 mg/mL respectivamente, con una potencia 10 mg por discos de *Aristotelia chilensis* (maqui) y *Gunnera tinctoria* (nalca), evidenciando actividad antimicrobiana contra *Candida glabrata*. Como control positivo se preparó discos de nistatina con potencia de 14 mg, los discos con etanol como control negativo 5,3 mg de potencia y agua destilada como neutro 7 mg de potencia por disco, el cual no se observó inhibición de crecimiento (figura 4.7).

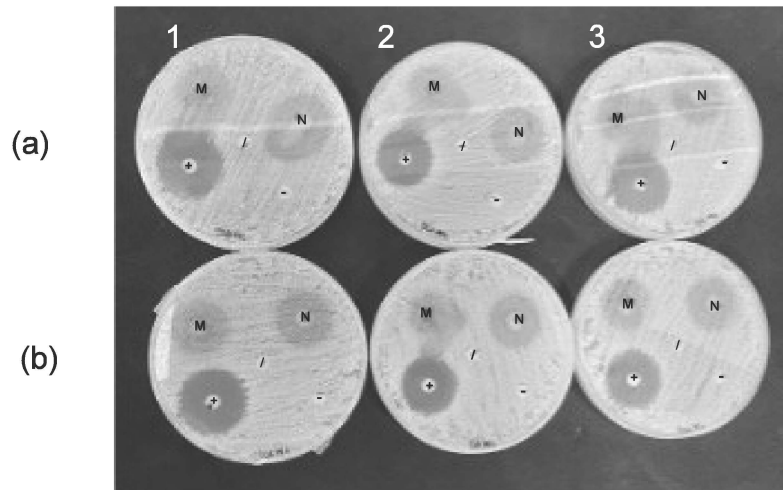


Figura 4.7 Antibiograma de microorganismos aislados de pacientes con estomatitis subprotésis en medio SDA. (a) Aislado 5; (b) Aislado 7; M: *A. chilensis* (maqui), N: *G. tinctoria* (nalca); +: Nistatina (control positivo); -: Alcohol (control negativo); /: Agua destilada estéril (control neutro).

Tabla 4.5 Diámetro de halo de inhibición de extractos de *A. chilensis* y *G. tinctoria* contra los aislados 5 y 7.

Tratamiento	Halo de inhibición (mm)	
	Aislado 5	Aislado 7
Maqui	23,0 ± 1,0	21,67 ± 1,5
Nalca	24,0 ± 1,0	23,67 ± 0,5
Nistatina	26,0 ± 3,0	25,67 ± 1,5
Solvente	0 ± 0	0 ± 0

Se evaluó la actividad antimicrobiana de los extractos de *Aristotelia chilensis* (maqui) y *Gunnera tinctoria* (nalca), frente a un control positivo (antifúngico), en relación con los aislados M5 y M7 de *Candida glabrata* (Tabla 4.5). Las áreas de inhibición (en milímetros) se evaluaron en tres repeticiones por cada tratamiento, consiguiendo los promedios y desviaciones estándar pertinentes.

Tabla 4.6 Análisis de ANOVA un factor Aislado 5 y 7.

Aislado	Fuente de variación	SS	DF	MS	F (DFn. DFd)	P value
5	Tratamiento (entre columnas)	1362	3	454,0	F (3,8) = 160,2	P<0,0001
	Residual (dentro de columnas)	22,67	8	2,833	-	-
	Total	1385	11	-	-	-
7	Tratamiento (entre columnas)	1284	3	428,1	F (3,8) = 342,5	P<0,0001
	Residual (dentro de columnas)	10,00	8	1,250	-	-
	Total	1294	11	-	-	-

La tabla presenta los resultados de análisis de varianza (ANOVA) para dos aislados 5 y 7. En ambos casos el valor F es elevado y el p-valor es menor a 0,0001, indicando que existen diferencias significativas entre las especies vegetales. Los valores de MS (media cuadrática) muestran la magnitud de variación entre los tratamientos y dentro de ellos (residual) (tabla 4.6).

Tabla 4.7 Comparación múltiple de Tukey entre tratamientos con aislado 5.

Comparación	Diferencia de medias	IC 95%	Significancia	P value ajustado
Maqui vs Nalca	-1,00	-5,401 a 3,401	Ns	0,8834
Maqui vs Nistatina	-3,33	-7,735 a 1,068	Ns	0,1491
Maqui vs Solvente	23,00	18,60 a 27,40	****	<0,0001
Nalca vs Nistatina	-2,33	-6,735 a 2,068	Ns	0,3841
Nalca vs Solvente	24,00	19,60 a 28,40	****	<0,0001
Nistatina vs Solvente	26,33	21,93 a 30,73	****	<0,0001

Solvente

Ns: No significativo

Tabla 4.8 Comparación múltiple de Tukey entre tratamientos con aislado 7.

Comparación	Diferencia de medias	IC 95%	Significancia	P value ajustado
Maqui vs Nalca	-2,00	-4,923 a 0,9233	Ns	0,2053
Maqui vs Nistatina	-4,00	-6,923 a -1,077	*	0,0101
Maqui vs Solvente	21,67	18,74 a 24,59	****	<0,0001
Nalca vs Nistatina	-2,00	-4,923 a 0,9233	Ns	0,2053
Nalca vs Solvente	23,67	20,74 a 26,59	****	<0,0001
Nistatina vs Solvente	25,67	22,74 a 28,59	****	<0,0001

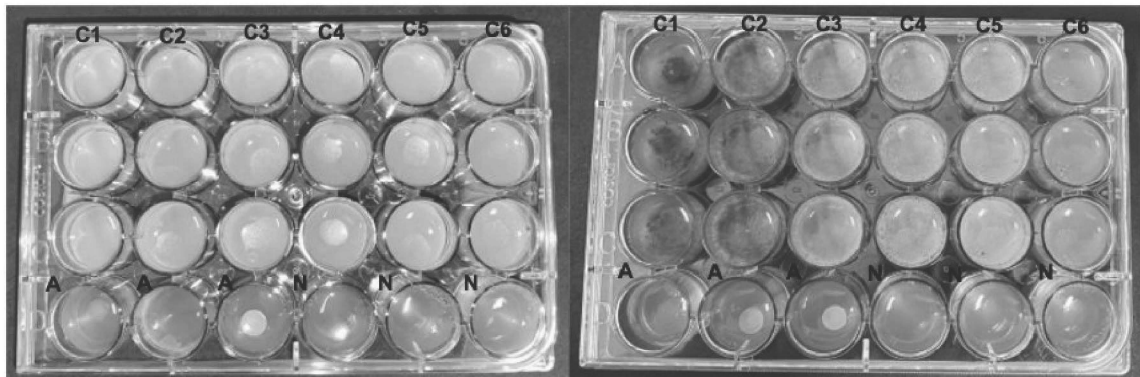
Ns: No significativo

El análisis de Tukey en el aislado 5 mostró que no existieron diferencias significativas entre Maqui, Nalca y Nistatina ( $p > 0,05$ ), lo que sugiere que ambos extractos poseen una eficacia comparable al antifúngico de referencia. No obstante, todos los tratamientos difirieron significativamente del solvente ( $p < 0,0001$ ), lo que confirma que el efecto observado corresponde a la acción de los compuestos activos presentes en los extractos (tabla 4.7).

El aislado 7, en el test de Tukey reveló que sí hubo diferencias significativas entre los tratamientos, destacándose *Gunnera tinctoria* (nalca) como el extracto más efectivo y estadísticamente distinto de *Aristotelia chilensis* (maqui), además de presentar un efecto comparable a la Nistatina, todos los tratamientos difirieron significativamente del solvente ( $p < 0,0001$ ) (tabla 4.8).

#### 4.4.2 Concentración mínima inhibitoria.

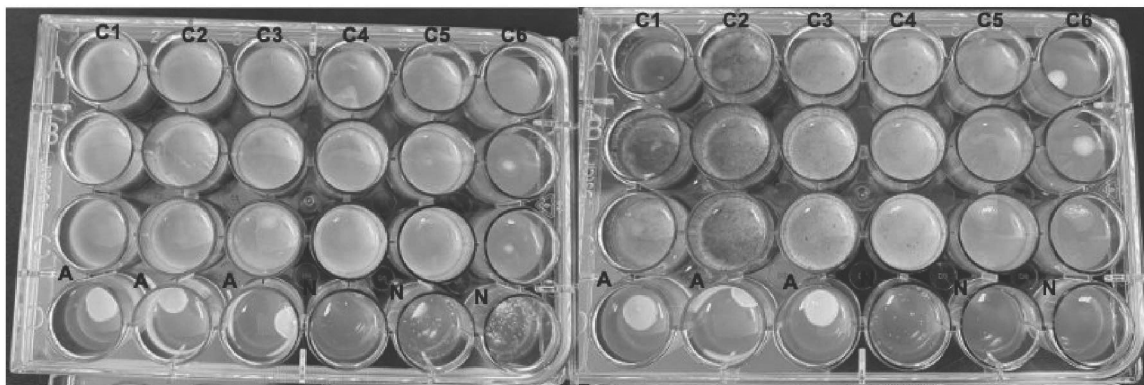
Se evaluó la actividad antimicrobiana de extractos vegetales de *A. chilensis* (maqui) y *G. tinctoria* (nalca) mediante ensayos en placas de microdilución de las aislado 5 (Figura 4.8) y aislado 7 (Figura 4.9). Se emplearon controles negativos con alcohol (A) y positivos con nistatina (N). La concentración mínima inhibitoria (CMI) se definió como la menor concentración del extracto en la cual no se evidenció visualmente crecimiento microbiano.



(a)

(b)

Figura 4.8 CMI Aislado 5. (a) *G. tinctoria* (nalca); C1: 100 mg/mL; C2: 50 mg/mL; C3: 25 mg/mL; C4: 12,5 mg/mL; C5: 6,25 mg/mL; C6: 3,125 mg/mL. (b) extracto de *A. chilensis* (maqui). C1: 100 mg/mL; C2: 50 mg/mL; C3: 25 mg/mL; C4: 12,5 mg/mL; C5: 6,25 mg/mL; C6: 3,125 mg/mL; A: Solvente; N: Nistatina.



(a)

(b)

Figura 4.9 CMI Aislado 7. (a) *G. tinctoria* (nalca); C1: 100 mg/mL; C2: 50 mg/mL; C3: 25 mg/mL; C4: 12,5 mg/mL; C5: 6,25 mg/mL; C6: 3,125 mg/mL. (b) extracto de *A. chilensis* (maqui). C1: 100 mg/mL; C2: 50 mg/mL; C3: 25 mg/mL; C4: 12,5 mg/mL; C5: 6,25 mg/mL; C6: 3,125 mg/mL; A: Solvente; N: Nistatina.

Tabla 4.9 Tabla binaria por concentración y extracto.

Aislado	Extracto	Concentración (mg/mL)	<i>Candida glabrata</i>
5	Nalca	100	Si
5	Nalca	50	Si
<b>5</b>	<b>Nalca</b>	<b>25</b>	<b>Si</b>
5	Nalca	12,5	No
5	Nalca	6,25	No
5	Nalca	3,125	No
5	Maqui	100	Si
<b>5</b>	<b>Maqui</b>	<b>50</b>	<b>Si</b>
5	Maqui	25	No
5	Maqui	12,5	No
5	Maqui	6,25	No
5	Maqui	3,125	No
7	Nalca	100	Si
<b>7</b>	<b>Nalca</b>	<b>50</b>	<b>Si</b>
7	Nalca	25	No
7	Nalca	12,5	No
7	Nalca	6,25	No
7	Nalca	3,125	No

7	<b>Maqui</b>	<b>100</b>	<b>Si</b>
7	Maqui	50	No
7	Maqui	25	No
7	Maqui	12,5	No
7	Maqui	6,25	No
7	Maqui	3,125	No

---

Si: Si hay Inhibición de crecimiento microbiano.

No: No hay inhibición de crecimiento microbiano.

Se realizó un análisis visual de concentración mínima inhibitoria (CMI) de los extractos frente a los aislados (tabla 4.9). Para el aislado 5 el extracto de *G. tinctoria* (nalca) presentó una CMI correspondiente a la concentración C3 (25 mg/mL), mientras que *A. chilensis* (maqui) mostró inhibición a partir de la concentración C2 (50 mg/mL). El aislado 7, el extracto de *G. tinctoria* (nalca) presentó una CMI en C2 (50 mg/mL) y el extracto de *A. chilensis* (maqui) una CMI en C1 (100 mg/mL) (tabla 9). *G. tinctoria* (nalca) presentó una inhibición superior respecto de *A. chilensis* (maqui) en las dos muestras, indicando una mayor potencia antimicrobiana, ya que se utiliza una menor concentración para lograr inhibir el crecimiento de microorganismos.

## V. DISCUSIÓN

El análisis de las muestras M5 y M7 confirmó la presencia de *Nakaseomyces glabratus* (también conocida como *Candida glabrata*), con altos porcentajes de identidad en BLASTn (95 % y 89 %) y valores E = 0,0. Este hallazgo es consistente con estudios, el cual reporta a *C. glabrata* como la segunda especie más frecuente en pacientes que utilizan prótesis, obteniendo un 18,4 % de los aislamientos (Gutiérrez, *et al.* 2013), dicha levadura es un patógeno emergente que usualmente se recupera en pacientes que han sido tratados anteriormente con medicamentos antifúngicos, siendo difícil de tratar por su resistencia a fármacos como los azoles, especialmente al fluconazol (Tapia P 2008). La generación de hipervirulencia es resultado del incremento de elementos de adherencia y cambios en enzimas esenciales que generan proteínas de la membrana celular, lo que dificulta el funcionamiento de medicamentos destinados a su inhibición (Frías-De-León, *et al.* 2021).

En cuanto a los extractos vegetales, *Aristotelia chilensis* (maqui) alcanzó un rendimiento de 2,33 % y *Gunnera tinctoria* (nalca) un 7,81 %. Estos valores coinciden con lo que se ha reportado para extractos de hojas de maqui las cuales son ricas en compuestos hidrofílicos (García-Milla, *et al.* 2024, Crisóstomo-Ayala, *et al.* 2022). En *Gunnera tinctoria* (nalca) predominan los compuestos fenólicos identificados los que corresponden principalmente a ácidos fenólicos, flavonoides

y proantocianidinas, responsables de la actividad antioxidante y antifúngica (Zamorano, *et al.* 2018).

Para obtener 1 g de extracto se necesitan 43 g de hojas secas de maqui y 13 g de nalca. A pesar de que el rendimiento del maqui es más bajo, su extracto mostró una mayor variedad y cantidad relativa de antocianinas, lo que confirma su reputación como una de las fuentes naturales más abundantes en estos compuestos. En cambio, nalca, aunque ofrece un rendimiento total superior, parece tener perfiles fenólicos distintos, más enfocados en ácidos orgánicos y flavonoles que en antocianinas, lo cual podría explicar la menor intensidad de ciertos picos que se observaron en los cromatogramas.

Los extractos de *Aristotelia chilensis* (maqui) y *Gunnera tinctoria* (nalca) demostraron actividad antifúngica contra *C. glabrata*, medida a través de zonas de inhibición y Concentración Mínima Inhibitoria (CMI). Entre ellos, *Gunnera tinctoria* sobresale por presentar una CMI más baja, lo que está alineado con su alta concentración de compuestos fenólicos antimicrobianos, como lo respaldan estudios previos (Fathi, *et al.* 2021, Genskowsky, *et al.* 2016). Aunque fue necesario emplear concentraciones relativamente elevadas, ambos extractos lograron inhibir completamente el crecimiento del hongo, lo que resalta su potencial como alternativas terapéuticas viables (Naskar, *et al.* 2025).

En conjunto, estos resultados avalan el efecto antifúngico de diversas plantas nativas chilenas y posicionan a *Gunnera tinctoria* como un candidato prioritario para investigaciones futuras. Se sugiere incorporar ensayos de citotoxicidad en etapas posteriores para evaluar su seguridad y facilitar su eventual aplicación en el ámbito clínico.

## VI. CONCLUSIONES

Los resultados de este estudio apoyan la hipótesis de que los extractos de las plantas nativas chilenas *Gunnera tinctoria* (nalca) y *Aristolelia chilensis* (maqui) poseen la capacidad de inhibir el crecimiento de especies de *Candida* aisladas de pacientes con prótesis parcial removible. La evaluación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) reveló que *Gunnera tinctoria* muestra una actividad antifúngica superior a la de *Aristolelia chilensis*, al requerir concentraciones más bajas para inhibir completamente los aislados estudiados 25–50 mg/mL frente a 50–100 mg/mL respectivamente.

En comparación con los antifúngicos tradicionales, los extractos demostraron un efecto inhibitorio significativo. Sin embargo, se necesitarán estudios adicionales para establecer equivalencias precisas y explorar su potencial terapéutico. En conjunto, estos hallazgos destacan a *Gunnera tinctoria* como un candidato prometedor para el desarrollo de nuevas alternativas antifúngicas basadas en productos naturales.

## VII. GLOSARIO

- Estomatitis subprotesis: Inflamación de la mucosa oral en contacto con una prótesis dental. Generalmente, surge por la irritación provocada por una prótesis mal ajustada o insuficientemente higienizada, lo que facilita el crecimiento de hongos como la *Candida*.
- Candidiasis oral: Infección en la cavidad bucal ocasionada por el crecimiento descontrolado del hongo *Candida*.
- Terapia fotodinámica antimicrobiana (PDT): Método terapéutico que combina un fotosensibilizador, luz con una longitud de onda específica y oxígeno, permitiendo la eliminación de microorganismos como bacterias, hongos y virus.
- Láser de baja potencia: Tecnología basada en luz de energía reducida que promueve la reparación celular, alivia el dolor y disminuye la inflamación sin causar daño ni necesidad de incisión en los tejidos.
- CMI (Concentración Mínima Inhibitoria): Menor cantidad de un agente antimicrobiano necesaria para inhibir completamente el crecimiento visible de un microorganismo.
- Antibiograma: Análisis microbiológico que evalúa la sensibilidad de microorganismos como bacterias, hongos o virus frente a distintos antibióticos.

- PCR (Reacción en cadena de la polimerasa): técnica biológica molecular que permite amplificar fragmentos de ADN.
- Blast: Herramienta bioinformática la que permite comparar una secuencia de ADN, ARN o proteínas con la base de datos.

## VIII. BIBLIOGRAFÍA

Arencibia, D., Gamez, R. and Rosario, L. 2008 Métodos generales de conservación de microorganismos. L. Ediciones (ed.), pp. 1-14. [https://www.researchgate.net/publication/262724715\\_Metodos\\_generales\\_de\\_conservacion\\_de\\_microorganismos](https://www.researchgate.net/publication/262724715_Metodos_generales_de_conservacion_de_microorganismos).

Avello, M., Valdivia, R., Sanzana, R., Moncada, M.A., Mennickent, S., Aeschlimann, V. *et al.* 2009 Extractos antioxidantes y antimicrobianos de *Aristolelia chilensis* y *Ugni molinae* y sus aplicaciones como preservantes en productos cosméticos. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, **8** (6), 479-486.

Ayuso Montero, R., Torrent Collado, J. & López López, J. 2004 Estomatitis protésica: puesta al día. *RCOE*, **9**, 645-652. [http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1138-123X2004000600004&nrm=iso](http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1138-123X2004000600004&nrm=iso).

Bauer, A.W., Kirby, W.M.M., Sherris, J.C. and Turck, M. 1966 Antibiotic Susceptibility Testing by a Standardized Single Disk Method. *American Journal of Clinical Pathology*, **45** (4<sub>ts</sub>), 493-496.

Ccorahua, Y.Y.E. 2018 Características macroscópicas y microscópicas de *Candida albicans* en mucosa, superficie de prótesis total en el hogar del adulto mayor "San Juan de Dios" Ica 2018. 36-37.

Crisóstomo-Ayala, K.A., Sabater-Jara, A.B., Pérez Manriquez, C., Ferreres, F., Gil-Izquierdo, Á., Pedreño, M.Á. *et al.* 2022 Comparative Study of Metabolomic Profile and Antioxidant Content of Adult and In Vitro Leaves of *Aristolelia chilensis*. *Plants*, **11** (1), 37. <https://www.mdpi.com/2223-7747/11/1/37>.

Desjardins, P. and Conklin, D. 2010 NanoDrop microvolume quantitation of nucleic acids. *J Vis Exp* (45). <https://doi.org/10.3791/2565>.

Duarte Trujillo, A.S., Jiménez Forero, J.A., Pineda Insusti, J.A., González Tujillo, C.A. and Garía Juárez, M. 2020 Extracción de sustancias bioactivas de *Pleurotus ostreatus* (Pleurotaceae) por maceración dinámica. *Acta biologica colombiana*, **25**. <https://doi.org/https://doi.org/10.15446/abc.v25n1.72409>.

Fathi, F., Ebrahimi, S.N., Valadão, A.I.G., Andrade, N., Costa, A.S.G., Silva, C. *et al.* 2021 Exploring *Gunnera tinctoria*: From Nutritional and Anti-Tumoral Properties to Phytosome Development Following Structural Arrangement Based on Molecular Docking. *Molecules*, **26** (19), 5935. <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/molecules26195935>.

Fernández González, O.L., González Rey, I., García Martínez, Y., Santana Delgado, R., Pérez Morales, V. & González Docando, Y.E. 2015 Tratamiento de la estomatitis subprótesis con láser de arseniuro de galio y aluminio. *Mediciego*, **21** (4), 52-54. <https://revmediciego.sld.cu/index.php/mediciego/article/view/526>.

Frías-De-León, M.G., Hernández-Castro, R., Conde-Cuevas, E., García-Coronel, I.H., Vázquez-Aceituno, V.A., Soriano-Ursúa, M.A. *et al.* 2021 *Candida glabrata* Antifungal Resistance and Virulence Factors, a Perfect Pathogenic Combination. *Pharmaceutics*, **13** (10). <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13101529>.

Fujita, S.I., Senda, Y., Nakaguchi, S. and Hashimoto, T. 2001 Multiplex PCR using internal transcribed spacer 1 and 2 regions for rapid detection and identification of yeast strains. *J Clin Microbiol*, **39** (10), 3617-3622. <https://doi.org/10.1128/jcm.39.10.3617-3622.2001>.

García-Milla, P., Peñalver, R. and Nieto, G. 2024 A Review of the Functional Characteristics and Applications of *Aristotelia chilensis* (Maqui Berry), in the Food Industry. *Foods*, **13** (6). <https://doi.org/10.3390/foods13060838>.

García-Valdés, E. (2009-2010). 2º de Biología prácticas de microbiología. <https://www.uib.cat/depart/dba/microbiologia/micro2/practicas.pdf>

Gauch, L.M.R., Pedrosa, S.S., Silveira-Gomes, F., Esteves, R.A. & Marques-da-Silva, S.H. 2018 Isolation of *Candida* spp. from denture-related stomatitis in Pará, Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*, **49** (1), 148-151. <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2017.07.001>.

Gavilanes Sánchez, C.A., Egas Sánchez, J.L., Ortega Pow Hing, G.P. and Bustamante Morán, V.H. 2024 Tratamiento tópico para estomatitis subprótesis mediante la incorporación de acondicionador de tejidos y nistatina. *Recimundo*, **8** n°2, 274-282. [https://doi.org/10.26820/recimundo/8.\(2\).abril.2024.274-282](https://doi.org/10.26820/recimundo/8.(2).abril.2024.274-282).

Genskowsky, E., Puente, L.A., Pérez-Álvarez, J.A., Fernández-López, J., Muñoz, L.A. and Viuda-Martos, M. 2016 Determination of polyphenolic profile, antioxidant activity and antibacterial properties of maqui [*Aristotelia chilensis* (Molina) Stuntz] a Chilean blackberry. *J Sci Food Agric*, **96** (12), 4 2 3 5 - 4 2 4 2 . <https://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/142064/Determination-of-polyphenolic-profile.pdf?sequence=1>.

Gleiznys, A., Zdanavičienė, E. & Žilinskas, J. 2015 *Candida albicans* importance to denture wearers. A literature review. *Stomatologija*, **17** (2), 54-66. <https://www.sbdmj.com/152/152-04.pdf>.

Goller, C. 2022 *Quick-Start Protocol for DNeasy® PowerSoil® Pro Kit v1*. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.17504/protocol%20s.io.j8nlkww45l5r/v1>.

González Beriau, Y., Dumenigo Soler, A. & Fuguet Boullón, J. 2017 Comportamiento de la estomatitis subprótesis en pacientes con prótesis dental superior. *MediSur*, **15**, 36-41. [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1727-897X2017000100007&nrm=iso](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1727-897X2017000100007&nrm=iso).

Gutiérrez, C.G., Bustos Medina, L., Sanchez, M., Zaror Cornejo, L. and Zambrano, M.E. 2013 Estomatitis Subprotésica en Pacientes de la IX Región, Chile. *International journal of odontostomatology*, **7**, 207-213. [http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0718-381X2013000200008&nrm=iso](http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718-381X2013000200008&nrm=iso)

Herrera, M.L. 1999 Pruebas de sensibilidad antimicrobiana: metodología de laboratorio. *Revista Médica del Hospital Nacional de Niños Dr. Carlos Sáenz Herrera*, **34**, 33-41. [http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1017-85461999000100010&lng=en&tlng=es](http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1017-85461999000100010&lng=en&tlng=es).

Khan, Z., Ahmad, S., Al-Sweih, N., Mokaddas, E., Al-Banwan, K., Alfouzan, W. *et al.* 2019 Changing trends in epidemiology and antifungal susceptibility patterns of six bloodstream *Candida* species isolates over a 12-year period in Kuwait. *PLOS ONE*, **14** (5). <https://doi.org/https://doi.org/10.1371/journal.pone.0216250>

Maver-Biscanin, M., Mravak-Stipetic, M. and Jerolimov, V. 2005 Effect of low-level laser therapy on *Candida albicans* growth in patients with denture stomatitis. *Photomed Laser Surg*, **23** (3), 328-332. <https://doi.org/10.1089/pho.2005.23.328>.

Ministerio de Salud, D. d. E. G. d. C. (2018). Encuesta nacional de salud 2016-2017 Segunda entrega de resultados. Ministerio de Salud, Departamento de Epidemiología. Gobierno de Chile. Pontificia Universidad Católica de Chile (PUC), 5-12. [https://epi.minsal.cl/wp-content/uploads/2019/01/2%C2%BA-Resultados-ENS\\_DEPTO.EPIDEMIOLOGIA.MINSAL.14.01.2019.pdf](https://epi.minsal.cl/wp-content/uploads/2019/01/2%C2%BA-Resultados-ENS_DEPTO.EPIDEMIOLOGIA.MINSAL.14.01.2019.pdf).

Naskar, S., Prajapati, A. and Kaur, R. 2025 Antifungal drug resistance in *Candida glabrata*: role of cellular signaling and gene regulatory networks. *FEMS Yeast Research*, **25**. <https://doi.org/10.1093/femsyr/foaf025>

Obando-Camino, M., Silva, M. and Zemelman, R. 2020 Evidencia científica de las propiedades medicinales de plantas para su uso en la medicina intercultural de Chile. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, **19** (2), 207-220. <https://doi.org/ttps://doi.org/10.37360/blacpma.20.19.2.13>.

Oesterle, I., Braun, D., Rompel, A. and Warth, B. 2022 Quantifying up to 90 polyphenols simultaneously in human bio-fluids by LC-MS/MS. *Analytica Chimica Acta*, **1216**, 339977. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.aca.2022.339977>.

Panizo, M.M. & Reviákina, V. 2001 Candida albicans y su efecto patógeno sobre las mucosas. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, **21**, 38-45. [http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1315-25562001000200011&lng=es&tlng=es](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1315-25562001000200011&lng=es&tlng=es).

Ramirez, J.F. & de la Torre, A. 2008 Evaluación de los cebadores TS3 e ITS4 para la detección de infecciones por Candida spp. en muestras de flujo vaginal y humor acuoso. *Asociación colombiana de infectología*, **12-2**, 332-339. [https://revistainfectio.org/P\\_OJS/index.php/infectio/article/view/114/139](https://revistainfectio.org/P_OJS/index.php/infectio/article/view/114/139).

Rawal, A., Srivastava, A., Shrivastava, R., Goyal, M., Aghera, A. and Pattnaik, N. 2024 Antifungal effects of natural extracts on Candida albicans. *Bioinformation*, **20** (9), 1142-1147.

Silva, S., Negri, M., Henriques, M., Oliveira, R., Williams, D.W. and Azeredo, J. 2012 Candida glabrata, Candida parapsilosis and Candida tropicalis: biology, epidemiology, pathogenicity and antifungal resistance. *FEMS Microbiology Reviews*, **36** (2), 288-305. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2011.00278.x>.

Tapia P, C. 2008 Candida glabrata. *Revista chilena de infectología*, **25**, 293-293. [http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0716-10182008000400009&nrm=iso](http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182008000400009&nrm=iso).

Velásquez, P., Riquelme, K., Leyton, F., Giordano, A., Gómez, M. and Montenegro, G. 2021 Antibacterial potential assessment of Nalca (Gunnera tinctoria Mol.) ethanolic extracts. *Natural Product Research*, **35** (23), 5425-5428. <https://doi.org/10.1080/14786419.2020.1777118>.

Zamorano, P., Morales, M. and Rojano, B.A. 2018 Composición Química Proximal, Capacidad Antioxidante y Actividad Antifúngica de Peciolo de Nalca (Gunnera tinctoria). *Información tecnológica*, **29**, 185-194. [http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0718-07642018000200185&nrm=iso](http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718-07642018000200185&nrm=iso).