

**UNIVERSITATEA “OVIDIUS” DIN CONSTANȚA
ȘCOALA DOCTORALĂ DE ȘTIINȚE APLICATE
DOMENIUL DE DOCTORAT: BIOLOGIE/ BIOCHIMIE**

REZUMAT AL TEZEI DE DOCTORAT
STUDII FIZICE, HISTOLOGICE ȘI BIOCHIMICE
AVANSATE ÎN MICOZE CUTANATE

Conducător Doctorat,

Prof. Univ. Emerit Dr.CSI Roșoiu Natalia

Membru Titular al Academiei Oamenilor de Știință din România

Doctorand:

Moroianu D. Olimpia-Nicoleta

CONSTANȚA
-2022-

MULȚUMIRI

Alese mulțumiri conducătorului științific, doamna prof. emerit Natalia Roșoiu pentru naturalețea și căldura cu care m-a tratat pe parcursul dezvoltării mele profesionale în cadrul Universității “Ovidius” Constanța, pentru tot sprijinul, îndrumarea competentă pregătirii mele, toate informațiile utile tehnoredactării tezei de doctorat și multumesc, domnei profesor cu infinită recunoștință, pentru tot ajutorul acordat pe parcursul întregii perioade de cercetare și elaborare a tezei de doctorat.

Mulțumesc domnului Dr. Popescu Nelu-Doru pentru îndrumarea de specialitate în alegerea și derularea experimentelor necesare temei de doctorat, pentru punerea la dispoziție a laboratoarelor de specialitate și a noțiunilor teoretice utile și, de asemenea, mulțumesc domnului doctor pentru toată răbdarea de care a dat dovadă pe parcursul întregii mele specializări ori de câte ori am avut nevoie.

Mulțumesc colectivului de cercetători din cadrul laboratoarelor de microscopie electronică ale Universității “Ovidius”: prof. univ. dr. Victor Ciupină, prof. univ. dr. Constanța Ștefanov, prof. univ. dr. Nicolae Dobrin.

Mulțumesc domnului dr. Lucian Cristian Petcu pentru sprijinul informatic și consultativ oferit în elaborarea datelor legate de procedurile histologice/ce țin de statistică privind micozele.

Mulțumesc d-lui prof. univ. dr. Leonard Gurgăș pentru colaborare în desfășurarea optimă a studiilor temei de doctorat aleasă.

Mulțumesc doamnei dr. Adumitresei Cecilia care mi-a facilitat realizarea experimentelor de laborator la “Centrul Medical Provita 2000” din Constanța.

Mulțumesc doamnei asistent de laborator Alina Raluca Ursu pentru sprijinul oferit în realizarea experimentelor de laborator specifice tezei de doctorat.

Mulțumesc colectivului de specialiști din cadrul Laboratorului de analize medicale de la Clinica “Centrul Medical Provita 2000” Constanța și a celui din cadrul Laboratorului de analize (secția dermatologie) din cadrul Spitalului Clinic Județean de Urgență “Sf. Andrei” din Constanța pentru sprijinul acordat în derularea experimentelor și furnizarea/obținerea datelor necesare. Mulțumesc colectivului de specialiști de la “Centrul Medical Iowemed – Medcover” care m-a sprijinit în realizarea cazului particular aferent. Mulțumesc colectivului de cadre didactice al Școlii Doctorale de Științe Aplicate din cadrul Universității “Ovidius” Constanța pentru întreaga îndrumare profesională care a stat la baza realizării stagiului de doctorat în această perioadă. Mulțumesc tuturor membrilor comisiei de doctorat pentru răbdarea cu care au analizat lucrarea și pentru toate sugestiile propuse. Doresc să mulțumesc familiei mele pentru iubirea, înțelegerea și sprijinul moral pe care mi le-au acordat pe parcursul stagiului de dezvoltare profesională și personală.

Va mulțumesc!

CUPRINS

STUDII FIZICE, HISTOLOGICE ȘI BIOCHIMICE AVANSATE ÎN MICOZE CUTANATE

OBIECTIVELE ȘI SCOPUL LUCRĂRII.....	1
PARTEA I. STADIUL CUNOAȘTERII.....	3
CAPITOLUL 1. EMBRIOLOGIA, ANATOMIA, HISTOLOGIA ȘI FUNCȚIILE PIELII.....	13
1.1 Embriologia organului cutanat.....	13
1.2 Anatomia pielii.....	14
1.3 Histologia pielii.....	15
1.3.1 Epidermul.....	15
1.3.2 Joncțiunea dermo-epidermică.....	19
1.3.3 Dermul.....	20
1.3.4 Hipodermul.....	21
1.4 Vascularizația pielii.....	21
1.4 Funcțiile pielii.....	21
1.5 Inervația pielii.....	22
1.6 Anexele pielii.....	23
1.6.1 Glandele sudoripare.....	24
1.6.2 Glandele sebacee.....	24
1.6.3 Glandele mamare.....	24
1.6.4 Firul de păr.....	25
1.6.5 Unghiile	25
1.7 Funcțiile pielii.....	25
1.7.1 Keratinogeneza.....	25
1.7.2 Melanogeneza.....	26
1.7.3 Formarea filmului hidrolipidic.....	26
1.7.4 Funcția secretorie.....	26
1.7.5 Pilogeneza.....	28
1.7.6 Funcția de termoreglare.....	28
1.7.7 Funcția neuroexteroceptoare.....	28
1.7.8. Funcția neurovasomotorie.....	29
1.7.9 Funcția metabolică.....	29
1.7.10 Funcția de rezistență, elasticitate și plasticitate.....	30
1.7.11 Funcția endocrină.....	30
1.7.12 Funcția psihosocială.....	31
1.7.13 Funcția imunologică.....	31
1.7.13.1 Sistemul imun înăscut	31
1.7.13.2 Imunitatea adaptativă.....	31
CAPITOLUL 2	
MICOZE.....	36
2.1 Fungi.....	36
2.2 Diagnosticul infecțiilor produse de dermatofiți și levuri.....	39

2.3 Clasificarea micozelor.....	42
2.3.1 Micozele superficiale.....	43
2.3.2 Micozele profunde (sistemice).....	54
CAPITOLUL 3. Antimicotice.....	57
3.1Tratament.....	57
3.2. Baze farmacologice.....	57
3.2.1 Antibiotice.....	63
PARTEA II. CONTRIBUȚII PERSONALE	
INTRODUCERE	69
CAPITOLUL 4.MATERIAL ȘI METODE.....	70
CAPITOLUL 5. STUDII DE CAZ.....	89
5.1 Studiu experimental asupra efectului inhibitor al unor substanțe aplicate în variate diluții asupra culturilor de Candida albicans (Moroianu O-N, Popescu N-D & Roșoiu N., 2018).....	89
5.2 Studiu comparativ al acțiunii unor substanțe naturiste asupra Candidaei albicans si Aspergillus) (O-N Moroianu, Popescu N-D & Roșoiu N., 2020).....	99
5.3 STUDIU PRIVIND ACȚIUNEA UNOR PRODUSE NATURISTE ASUPRA CULTURILOR DE CANDIDA ALBICANS (Olimpia-Nicoleta Moroianu, Nelu-Doru Popescu, Alina Raluca Ursu, Natalia Roșoiu, 2022).....	108
5.4. Studiu al acțiunii unor substanțe chimice și naturiste asupra culturilor de Candida Albicans (Olimpia-Nicoleta Moroianu, Nelu-Doru Popescu, Alina Raluca Ursu, L. Gurgăș, N.Roșoiu, 2022).....	123
5.5 Studiu privind acțiunea a 9 produse naturiste și a soluției coloidale de Cu asupra culturilor de Candida albicans (Olimpia-Nicoleta Moroianu, Nelu Doru Popescu, Alina Raluca Ursu Tony Laurențiu Hangan, Natalia Roșoiu, 2022)	136
5.6 Studiu cu 15 substanțe naturiste și soluție coloidală de platină asupra Candidei albicans (Olimpia-Nicoleta Moroianu, Nelu-Doru Popescu, Alina Raluca Ursu, Natalia Roșoiu).....	147
5.7 Modificări evidențiate prin microscopia electronică de transmisie (TEM) în culturi de Candida Albicans inoculate cu ulei de oregano (Olimpia-Nicoleta Moroianu, Nelu-Doru Popescu, Constanța Ștefanov, Nicolae Dobrin, Natalia Roșoiu, 2022).....	161
5.8 Studiu asupra factorilor interni și externi implicați în patogenia afecțiunilor determinate de levuri din genul și specia candida (Moroianu Olimpia-Nicoleta, Popescu Nelu-Doru, Roșoiu Natalia, Olgun Azis)	172
5.9 Analiză statistică comparativă preliminară a două loturi de pacienți cu micoze: candidoze, respective alte micoze (Moroianu O.N., Popescu D.N., Petcu L.C., Gurgăș L., Roșoiu N., 2019).....	179
Concluzii generale.....	207
BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ.....	214
LUCRĂRI ȘTIINȚIFICE PUBLICATE ÎN CURSUL STAGIULUI DE DOCTORAT.....	230
Lucrări prezentate la manifestări științifice naționale și internaționale și publicate sub formă de rezumat.....	233
Participări la congrese științifice naționale și internaționale.....	234

Cuvinte cheie: candida Albicans, Aspergiloza, mediul Sabouroud, microscopie optică, TEM

OBIECTIVELE ȘI SCOPUL LOR

În lucrarea de față am studiat mai multe aspecte. Pe de o parte am urmărit diferențele rezultatelor terapeutice într-o cazuistică cu micoze internate, prin analiza fișelor de observație de la Spitalul Județean “Sf Andrei” din Constanța (secția Dermatologie), pe de altă parte am căutat remedii (naturiste și chimice) diferite față de cele clasice, în combaterea micozelor și, în principal, a Candida albicans, care este frecvent întâlnită de la vârste fragede până la persoanele vârstnice, atât datorită imunității scăzute, dar și/ a factorilor de uz intern și extern.

Am investigat 65 foi de observație ale unor pacienți diagnosticați cu diferite forme de „candidoză” și un număr de 40 foi de observație ale unor pacienți diagnosticați cu diferite forme de „alte micoze”. Pacienții au fost internați în Spitalul “Sf Andrei” din Constanța (secția Dermatologie), în perioada mai 2017- februarie 2018.

Principalele date pașaportale au fost introduse într-un program statistic SPSS 23, obținându-se grafice comparative referitoare la condiții de viață (rural/urban), sex, vârstă, investigații biochimice și hematologice, într-un studiu comparativ candida/alte micoze, referitoare la pacienți internați în perioada specificată/ analizată.

Date importante au fost obținute și prin compararea asocierii cu alte diagnostice precizate în documentația medicală.

Am comparat acțiunea unor produse naturiste în diferite concentrații asupra candida și Aspergillus pe parcursul a 24 h.

De asemenea, lucrarea urmărește punerea în evidență a acțiunii unor substanțe naturiste, și nu numai, asupra culturilor de Candida albicans.

Studiile aferente lucrării în cazul combaterii candida s-au desfășurat pe parcursul a 24 h, 48 h, 72 h, 96 h sau 120 h etc.

Observațiile s-au făcut folosind diferite concentrații ale substanțelor ce au acționat în condiții de temperatură constantă și diferite intervale de timp. Astfel, în lucrarea de față am cercetat inhibarea dezvoltării candida prin utilizarea de uleiuri esențiale precum: geranium, arbore de ceai, oregano, chimen negru, coriandru, ghimbir, lămâie, ulei de cătină albă de uz intern sau Hippophae rhamnoides, ulei de muștar presat la rece etc, tincturi (de gălbenele, de iod 2% , de coada șoricelului, propolis, brusture, anghinare, de lemn dulce sau răculeț, adică rădacini de Glycyrrhiza glabra etc.) și a unor capsule (de exemplu graviola pe o perioadă 48 de h; turmeric & piper pentru 120 h etc), soluții coloidale (de ioni de Ag super concentrat, Au & Ag, Pt, Cu), precum și alte produse aflate în comerț (oțet de mai multe tipuri și în diferite concentrații/ diluții, bitter etc).

În unele cazuri am utilizat substanțe (uleiuri sau alte produse) în concentrație de 10%, 20% sau chiar 30% pentru un efect favorabil.

În studiul de față ne-am propus formularea de observații asupra modificărilor culturilor de *Candida albicans*, ca urmare a intervenției secvențiate cu mai multe produse naturiste și chimice.

Principalele obiective ale lucrării au constat în:

1. Analizarea acțiunii unor substanțe din plante selectate asupra a două specii miceliene, vizând selectarea unor substanțe naturiste, pentru tratarea micozelor precum Candidoza și Aspergiloza.
2. Compararea datelor pașaportale în cazul pacienților cu micoze, respectiv alte micoze de la Spitalul clinic Județean de Urgență „Sf. Andrei” (secția Dermatologie) din Constanța în perioada analizată.
3. Punerea în evidență a acțiunii micolitice în vitro a acidului acetic 1M asupra culturilor de *Candida albicans*; totodată evidențierea lipsei de acțiune a diferite concentrații ale bicarbonatului de sodiu, clorurii de sodiu și ale alcoolului asupra acelorași tipuri de culturi.
4. Indicarea acțiunii a 9 substanțe naturiste (uleiuri esențiale, tincturi etc) și a soluției coloidale de Cu asupra culturilor de *Candida Albicans* pe parcursul a 5 zile.
5. Studiarea *Candidei albicans* în prezența a 15 substanțe naturiste și a soluției coloidale de Pt.
6. Formularea de observații asupra modificărilor culturilor de *Candida albicans*, ca urmare a intervenției secvențiate cu mai multe produse naturiste.
7. Vizualizarea și examinarea la microscopul optic a lamelor cu *Candida albicans*, pe care am aplicat diverse substanțe și am obținut un efect antifungic și colorare (cu albastru de metilen 3%, și violet de gențiană 3%) la Clinica „Centrul Medical Provita 2000” în perioadele vizate.
8. Captarea de imagini în secțiune și analizarea structurii electrono-microscopice a culturii de *Candida albicans* tratată cu ulei esențial de oregano; în cazul acesta am folosit culturi de *Candida albicans* ATCC 60193 tratate în prealabil cu ulei esențial de oregano, care a fost lăsată inițial 72 h la termostat, în vederea inhibării de uleiul esențial de oregano; prelevarea de probe din acest mediu și tratarea corespunzătoare pentru a putea fi vizualizate, analizate și interpretate la microscopul electronic de transmisie (TEM).
9. Combaterea factorilor interni și externi care stau la baza infestării/îmbolnăvirii cu candida, urmare a unui caz particular susținut la “Centrul Medical Iowemed – Medicover” din Constanța la în perioada 1-31 august 2017.

Lucrarea își propune sistematizarea informațiilor referitoare la etiopatogenia candidozelor cutaneo-mucoase, cu scopul de a evidenția cele mai eficiente indicații profilactice și terapeutice ale acestor afecțiuni.

PARTEA II. CONTRIBUȚII PERSONALE

INTRODUCERE

În general bolile de piele și în mod extraordinar, micozele, au un impact deosebit în privința stării de spirit a bolnavului.

Aceste boli pot cauza probleme deosebite în modul de relaționare dintre oameni, deoarece sunt vizibile.

Așa cum spunea Commel:

“Organul cutanat reprezintă fațada monumentală a corpului uman” .

Pentru a înțelege mai bine micozele am efectuat mai multe studii. Unele au avut scopul de a găsi remedii în astfel de boli, iar altele au indicat boli colaterale în astfel de cazuri etc.

Am căutat remedii naturiste și, nu numai, în inhibarea *Candidei albicans*, precum și a altor micoze ca de exemplu *Aspergiloza*.

Am investigat biochimic și hematologic două loturi candida/micoze obținând grafice comparative referitoare la condiții de viață (rural/urban), sex, vârstă, investigații biochimice și hematologice, într-un studiu comparativ candida/alte micoze, referitoare la pacienții internați în perioada specificată/ analizată.

Am captat imagini de microscopie optica și TEM și la final am tras concluziile caracteristice.

Studiile au fost realizate la câteva laboratoare medicale renumite din Constanța: “Centrul Medical Provita 2000”, “Centrul Medical Iowemed-Medicover”, Secția Clinică de Dermatovenerologie din cadrul Spitalului Județean de Urgență “Sf. Apostol Andrei” și Laboratorul de Microscopie Electronică al Facultății de Medicină din Constanța.

CAPITOLUL 4. MATERIAL ȘI METODE

Pentru realizarea temei caracteristice tezei de doctorat am utilizat diverse materiale și metode de lucru deoarece am avut studii diferite în cercetare.

1. Astfel, pentru studiul comparativ de statistică referitor la candida/ micoze au fost selectate un număr de 65 foi de observație a unor pacienți diagnosticați cu diferite forme de „candidoză” și un număr de 40 foi de observație a unor pacienți diagnosticați cu diferite forme de „alte micoze”.

Principalele date pașaportale au fost introduse într-un program statistic SPSS 23 obținându-se grafice comparative referitoare la condiții de viață (rural/ urban), sex, vârstă, investigații biochimice și hematologice.

2. Un alt studiu a fost efectuat în vederea tratării micozelor precum Candidoza și *Aspergiloza*.

Pentru a determina acțiunea unor substanțe extrase din plante asupra culturilor miceliene, am efectuat studii experimentale folosind extrase din plante (uleiuri și tincturi).

- *Am prelevat probe de la o persoană care prezenta detritusuri celulare cu Aspergillus (la pavilioanele auriculare), după care le-am amestecat cu anumite diluții de uleiuri esențiale sau tincturi și le-am aplicat pe plăci Petri cu mediu de cultură Saboraud. Am introdus aceste plăci într-un termostat la temperatura de 37 °C pentru 24 h.*
- Substanțele au fost aplicate pe culturi de *Candida*/și culturi de mușegai de urechi *Aspergillus* (prelevat de pe pavilioanele auriculare).

Plăcile au fost incubate 24 de h la termostat (Moroianu et al, 2019).

Substanțele folosite în studiu au avut concentrații de 10% și 20%.

3. Un alt studiu de cercetare a urmărit punerea în evidență a acțiunii antifungice a unor substanțe naturiste asupra culturilor de *Candida albicans*. Observațiile s-au făcut folosind diferite concentrații ale substanțelor ce au acționat în condiții de temperatură constantă și diferite intervale de timp; am cercetat inhibarea dezvoltării *candidei* prin utilizarea de uleiuri esențiale precum: arbore de ceai, oregano, chimen negru, coriandru etc, a tincturii de gălbenele și a unei capsule de graviola pe o perioadă de 48 de h; pentru cele 72 de h am folosit uleiuri esențiale și anume: salvie, mentă, geranium, aloe vera,

cimbru, tincturi (ca de exemplu: tincture de gălbenele, propolis, pătlagină și mușețel), capsule de graviola, soluții coloidale (de ioni de Ag super concentrat, de ioni de Au și Ag), Apa Doamnei, Bitter (din 50 de plante cu ganoderma, respectiv picături suedeze), oțet de mere și oțet din vin de concentrație 9 %.

4. Într- un alt studiu am folosit substanțe naturale și chimice.

Am utilizat mediul de cultură standard Sabouraud, pe care am însămânțat eșantioane de *Candida albicans*, dintr-un sortiment etalonat (Moroianu O-N et al, 2018), denumit ATCC.

Am introdus plăcile la termostat, la temperatura standard de 37°C (Buiuc D., Neguț, M., 2008).

Am folosit pentru experimentul de 4 zile:

- a. Cidru de mere, oțet de mere, sare iodată și acid citric.
- b. 2 soluții de bicarbonat de sodiu și tinctură de iod
- c. Probe de acid acetic: I. 1 ml acid acetic + 5 ml SF
II. 2 ml acid acetic + 5 ml SF
III. 3 ml acid acetic + 5ml SF
IV. 4 ml acid acetic + 5 ml SF
- d. Ulei de magneziu, ulei de pelin, ulei de cedru siberian, ulei de cedru - 200 μ l (substanță); am adăugat 800 μ l ser fiziologic.
- e. Ulei de ghimbir, ulei de lămâie, ulei de tămâie, ulei de neem.

Compușii chimici care au fost analizați în studiu au fost preparați în diferite diluții.

Am analizat apoi mărimea diametrului zonelor de inhibiție și liză a coloniilor miceliene la diferite intervale de timp (la 24 ore, 48 ore, 72 de ore (Moroianu O-N et al, 2018) și la, 96 h).

5. Au fost două studii de 120 h în care am obținut și imagini cu ajutorul microscopului optic. Am preparat substanțele analizate în studiu, în diferite diluții; apoi, am analizat mărimea diametrului zonelor de inhibiție și liză a coloniei miceliene la diferite intervale de timp (la 24 ore, la 48 ore și 72 de ore (12) , 96 h. și, respectiv, 120 h.

Pentru aceasta, am folosit mediul de cultură standard Sabouraud, pe care am însămânțat eșantioane de *Candida albicans*, dintr-un sortiment etalonat (Moroianu O-N et al, 2018), denumit ATCC.

Am introdus plăcile la termostat, la temperatura standard de 37 °C.

În studiul de față am realizat mai multe experimente pe parcursul a 96 de ore, folosind atât produse naturale (uleiuri esențiale, tincturi etc), cât și chimice (ex: bicarbonat de sodiu, acid citric, sare iodată într-un studiu), pentru a putea urmări acțiunea compușilor chimici asupra culturilor de *Candida albicans*.

Am utilizat o metodă de colorare (cu albastru de metilen 3% și violet de gențiană 3%) pentru a evidenția inhibarea/ sau nu a candidiei în prezența diferitelor produse avute în studiu, naturale și nu numai.

Succesiunea operațiunilor pentru examenul unui frotiu colorat în vederea identificării bacteriilor:

- Se face un frotiu, adică se așterne materialul biologic în strat foarte subțire pe o lamă de sticlă;
- Se fixează la flacără slabă (uneori cu alcool metilic) apoi
- Se începe colorarea după metoda următoare.

Colorația cu albastru de metilen 3% este cea mai simplă metodă :

- frotiul efectuat pe lamă din produsul patologic și apoi fixat la flacără se acoperă cu soluția de albastru de metilen 3%;
- apoi se spală cu apă de la robinet;
- după uscare se examinează la microscop.

Cu ajutorul acestei metode se pot evidenția germeni bactrieni extracelulari, germeni intracelulari și germeni încapsulați (Alexandru M et al, 2020).

Asemănător am procedat cu **violet de gențiană 3%** într-un alt studiu unde am colorat lamele care au inhibat dezvoltarea candidiei pe o anumită perioadă.

Ambele experimente cu microscopie optică s-au desfășurat pe o perioadă de 5 zile.

6. Un caz particular a fost efectuat pe o pacientă cu *Candida albicans*.

Studiul s-a desfășurat pe o pacientă în vârstă de 26 de ani care s-a prezentat la cabinetul medical cu o afecțiune în zona vaginală.

Pacienta M.C. , în vârstă de 26 ani, a acuzat disconfort în zona vaginală, mai exact mâncărime, prurit și miros neplăcut; au fost prelevate probe de la pacienta în cauză. În acest experiment am utilizat un sistem de identificare al candidiei denumit Candifast.

7. Pentru microscopia electronică cu transmisie (TEM) am prelevat 2 probe din mediul Sabouroud însămânțat cu eșantioane de *Candida albicans*, dintr-un sortiment etalonat, denumit ATCC; mediul a fost tratat inițial cu ulei esențial de oregano; am introdus placa la termostat, la temperatura standard de 37°C; aceasta a fost ținută în prealabil 72 h la termostat pentru a putea cerceta efectul antifungic al uleiului de oregano în timp (Moroianu O-N et al, 2018).

Dupa aceste 72 h în care *Candida albicans* a fost și inhibată de uleiul de oregano, am secționat materialul necesar TEM.

Probele prelevate au fost tratate corespunzător în continuare pentru a putea fi vizualizate și analizate la microscopul electronic de transmisie.



Figura 1 Microscopul electronic **Tecnai T12 produs de FEI**, care se găsește la Facultatea de Medicină a Universității “Ovidius” din Constanța

Probele din variantele experimentale au fost prelucrate prin metoda JASTROW modificată și analizate din punct de vedere ultrastructural prin microscopie electronică de transmisie prin parcurgerea mai multor etape de lucru.

Secțiunile fine s-au colorat dublu cu acetat de uraniu și acetat de plumb, după care s-au examinat la un **Microscop Tecnai T12 produs de FEI**, care aparține Facultății de Medicină a Universității “Ovidius” din Constanța din anul 1998.

Materialele și metodele utilizate sunt descrise amănunțit în “Partea II. Contribuții personale” a tezei de doctorat la experimente.

CAPITOLUL 5

5.1 STUDIU EXPERIMENTAL ASUPRA EFECTULUI INHIBITOR AL UNOR SUBSTANȚE APLICATE ÎN VARIATE DILUȚII ASUPRA CULTURILOR DE CANDIDA ALBICANS (MOROIANU O.-N., POPESCU N-D. , ROȘOIU N., 2018)

Studiul a urmărit acțiunea unor factori externi asupra culturilor de *Candida albicans*.

Substanțele analizate în studiu (bicarbonatul de sodiu, clorura de sodiu, acidul acetic și alcool etilic), au fost preparate în diferite diluții și aplicate prin intermediul unor rondelă absorbante, după modelul cum se procedează în cazul antibiogramelor sau al fungigramelor.

Rezultate și discuții

Am realizat diluțiile pentru substanțele: bicarbonat de sodiu, acid acetic, clorură de sodiu, alcool etilic de 90 °C în modul următor:

- am preparat câte patru diluții pentru fiecare substanță luată în studiu.

Pentru bicarbonatul de sodiu (NaHCO_3) și sarea de bucatărie (NaCl) am procedat astfel:

La 1000 ml apă distilată sterilă.....10 g bicarbonat de sodiu, respectiv NaCl (1 %)

La 500 ml apă distilată sterilă.....1 g bicarbonat de sodiu, respectiv NaCl (0,2 %)

La 250 ml apă distilată sterilă.....0,5 g bicarbonat de sodiu, respectiv NaCl (0,1 %)

La 125 ml apă distilată sterilă.....0,05 g bicarbonat de sodiu, respectiv NaCl (0,04 %)

Pentru alcool etilic $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-OH}$ de 90 °C și acid acetic $\text{CH}_3\text{-COOH}$ 1 M (acid acetic glacial), diluțiile utilizate au fost:

La 4 ml apă distilată sterilă.....3 ml alcool de 90°C, respectiv acid acetic 1 M

La 3 ml apă distilată sterilă.....2 ml alcool de 90°C, respectiv pentru acid acetic 1 M

La 2 ml apă distilată sterilă.....1 ml alcool de 90°C, respectiv acid acetic 1 M

La 1 ml apă distilată sterilă.....0,5 ml alcool de 90°C, respectiv acid acetic 1 M.



Figura 9 Placă Petri însămânțată cu *Candida Albicans*, pe care am aplicat câte o rondelă îmbibată în soluție de acid acetic glacial, în patru diluții (de concentrații: 44%, 41, 18%, 34, 43% și, la fel, 34, 43%)

Concluzii

În urma acestor determinări, am constatat că la bicarbonatul de sodiu, alcool etilic și clorura de sodiu nu s-a evidențiat efectul inhibitor așteptat asupra culturilor de *Candida albicans*. Doar la acid acetic a fost semnalat efectul inhibitor (la concentrația de 33, 43%, aproximativ 33, 4%). Aplicarea de acid acetic diluat, în concentrație de 33, 43%, ar putea determina distrugerea coloniilor de *Candida Albicans* și în vivo.

Studiul poate fi extins asupra multor altor substanțe, inclusiv asupra unor extracte din plante.

5.2 STUDIU COMPARATIV AL ACȚIUNII UNOR SUBSTANȚE NATURISTE ASUPRA CANDIDEI ALBICANS ȘI ASPERGILLUS (Olimpia-Nicoleta MOROIANU, Nelu - Doru POPESCU, Natalia ROȘOIU, 2020)

Experimentul nr. 1

Acțiunea unor substanțe extrase din plante asupra culturilor de Candida Albicans.

Substanțele supuse studiului experimental s-au aplicat pe plăci de cultură însămânțate pe mediul Saboraud, cu Candida Albicans.

1. Am realizat diluțiile de 100 μ l substanță (uleiul respectiv)/ 900 μ l ser fizologic pentru: a. Uleiuri de: Aloe, eucalipt, salvie, mentă

b. Tincturi: Echinaceea, usturoi, propolis, galbenele

Substanțele au fost aplicate pe culturi de Candida/și culturi de mucegai de urechi Aspergillus (prelevat de pe pavilioanele auriculare).

Plăcile au fost incubate 24 de h la termostat (Moroianu et al, 2019).

La aplicarea acestor substanțe culturilor pentru tratarea Candidei Albicans, cu aceste substanțe și-n aceste condiții, nu s-au constatat modificări.

Am repetat experimentul cu diluțiile: 200 μ l substanță/ 800 μ l ser fizologic

De asemenea, am adăugat uleiurile de pin, geranium, cuișoare, sămburi de grefe, precum și tincturile de patlagină și mușețel.

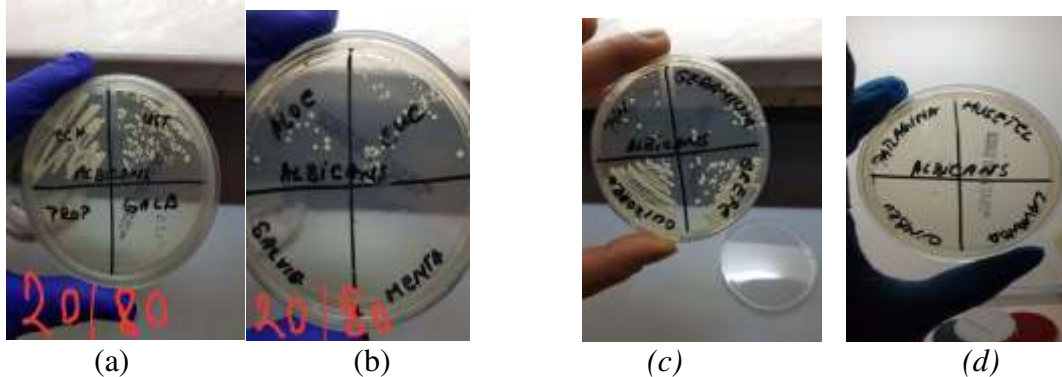


Figura 13 (a, b, c, d) Plăci de cultură însămânțate cu candida albicans pe care s-au aplicat uleiuri de salvie, aloe, eucalipt, mentă, pin, geranium, cuișoare, sămburi de grefe, cimbru, lavandă în concentrație de 20 % și tincturi de echinacea, usturoi, propolis, gălbenele, patlagină, mușețel

Dupa 24 de ore de termostare s-au observat urmatoarele:

- La plăcile unde s-au aplicat soluții în concentrație de 10 % nu s-a remarcat nicio acțiune;
- La plăcile unde s-au aplicat soluții în concentrație de 20 % prezintă sensibilitate. Diluțiile de 200 μ l substanță/ 800 μ l ser fizologic pentru:
 - uleiul de pin și cel de geranium au determinat distrucția parțială (circa 70%) a coloniilor miceliene;
 - uleiul din sămburi de grefe și cel de cuișoare nu a produs nici o modificare;

- uleiurile (esențiale) de lavandă, salvie, mentă și cel de cimbru au determinat distrucția totală a coloniilor miceliene.
- tinctura de patlagină, mușețel, gălbenele și propolis au determinat distrucția totală a coloniilor miceliene de asemenea.

Candida este sensibilă la patlagină, mușețel, gălbenele, propolis (tincturi) și cimbru, lavandă, salvie și mentă (uleiuri).

Experimentul nr. II

Acțiunea unor substanțe extrase din plante asupra culturilor de *Aspergillus*

*Pentru a evidenția acțiunea unor substanțe extrase din plante asupra culturilor de *Aspergillus*, am prelevat probe de la o persoană care prezenta detritusuri celulare cu *Aspergillus* (la pavilioanele auriculare), după care le-am amestecat cu anumite diluții de uleiuri esențiale sau tincturi și le-am aplicat pe plăci Petri cu mediu de cultură Saboraud. Am introdus aceste plăci într-un termostat la temperatura de 37°C pentru 24 h.*

1. Am utilizat următoarele substanțe:

- aloe, eucalipt, salvie, mentă –uleiuri esențiale
- echinaceea, usturoi, propolis, gălbenele –tincturi

Am realizat diluțiile de 100 μl substanță (uleiul respectiv)/ 900 μl ser fizologic.

La aplicarea acestor substanțe culturilor pentru tratarea de *Aspergillus*, nu s-au constatat modificări.

2. Diluțiile de 200 μl substanță / 800 μl ser fizologic pentru substanțele utilizate anterior, la care am mai adăugat alte substanțe, adică:

- uleiuri de : pin, geranium, cuișoare, grefe (sâmburi de grepefruit), Aloe, eucalipt, salvie, mentă;
- tincturi de : cimbru, lavandă, patlagină, mușețel, echinaceea, usturoi, propolis, gălbenele aplicate pe mediile de cultură (Moroianu O-N et al, etc).

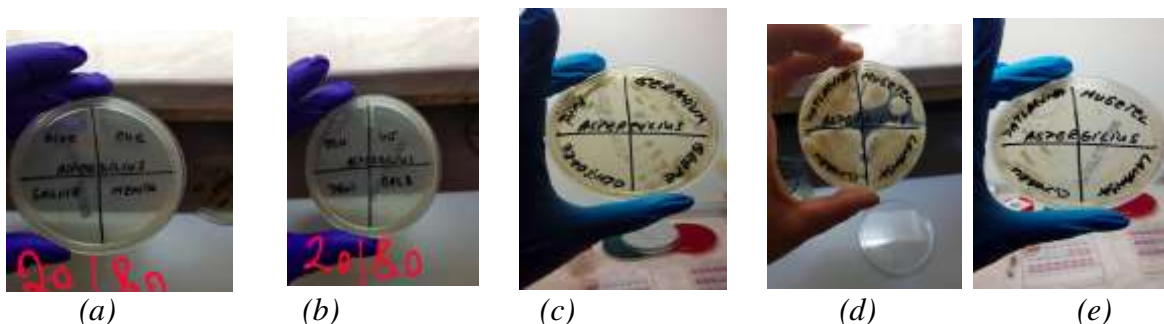


Figura 16 (a, b, c, d, e) Plăci însămânțate cu *Aspergillus* pe care s-au aplicat uleiuri în concentrație de 20% sau tincturi

Uleiul de eucalipt, Aloe, salvie, mentă, cuișoare, precum și tincturile de usturoi, propolis, gălbenele și echinaceea au demonstrat după o incubare de 24 de ore acțiunea fungicidă în proporție de 100/100 asupra coloniilor de *Aspergillus*.

Discuții

După această perioadă am constatat că în cazul unor uleiuri (mai exact cele de cuișoare, aloe, salvie, eucalipt și echinaceea), precum și în cazul câtorva tincturi, spre exemplu tinctura de propolis, mușețel, usturoi și gălbenele dintre cele propuse în studiu că apare o sensibilitate, ceea ce înseamnă că putem trata *Aspergillus* în mod naturist.

Aspergillus prezintă sensibilitate la diluțiile de 200 μ l substanță/ 800 μ l ser fiziologic pentru uleiul de eucalipt, salvie, mentă, echinacea și tinctură de usturoi, gălbenele și propolis în cele 24 de h.

Concluzii

Rezultatele celor două experimente demonstrează că în terapia micozelor cutanate și mucoase poate fi recomandată aplicarea locală a produselor extrase din plante, comercializate sub formă de uleiuri sau tincturi. Produsele recomandate sunt: tincturile de gălbenele și propolis; uleiurile de salvie și mentă. Concentrația recomandată este de 20%, în aplicații zilnice, până la completa vindecare.

5. 3 STUDIU PRIVIND ACȚIUNEA UNOR PRODUSE NATURISTE ASUPRA CULTURILOR DE CANDIDA ALBICANS (Olimpia-Nicoleta Moroianu, Nelu-Doru Popescu, Alina Raluca Ursu, Natalia Roșoiu, 2022)

În studiul de față ne-am propus o serie de experimente, dintre care unele au fost realizate pe parcursul a 48 de ore și altele a 72 de ore folosind produse naturale (uleiuri esențiale, tincturi, capsule, bitter etc) pentru a evidenția acțiunea substanțelor asupra culturilor de Candida albicans.

Rezultate

Am urmărit acțiunea asupra candidiei a unor uleiuri esențiale precum: arbore de ceai, oregano, chimen negru, coriandru, rozmarin, ienupăr, a tincturii de gălbenele și a unei capsule de graviola pe o perioadă de 48 de h; de asemenea, pentru cele 72 de h am folosit uleiuri esențiale (salvie, mentă, geranium, aloe vera, cimbru), tincturi (de gălbenele propolis, pătlagină și mușețel), capsule de graviola, soluții coloidale (de ioni de Ag super concentrat, de ioni de Au și Ag), Apa Doamnei, Bitter (din 50 de plante cu ganoderma, respectiv picături suedeze), oțet de mere și oțet din vin 9%.

I. Experimente de 48 h

Am pregătit diluții de 200 μ l substanță/800 μ l ser fiziologic.

În acest experiment am folosit ulei esențial de arbore de ceai, oregano, chimen negru, coriandru, rozmarin, ienupăr și tinctură de gălbenele (fig .1 și fig.2). De asemenea, am dizolvat 1 capsulă de graviola (extract pur) în 2 ml de ser fiziologic. O capsulă vegetală de graviola conține extract 5:1 din fructe de graviola (Annona muricata)- pulbere din graviola-200 mg.La toate acestea am adăugat 2-3 colonii de Candida spp. Se amestecă, se lasă la termostat cam o oră, apoi din emulsia obținută se însămânțează pe placa Sabouroud și se introduce la termostat 24 h, după care se citește rezultatul. Candida este sensibilă la uleiul de oregano și uleiul din arborele de ceai.



Figura 17 (a, b) Plăci de cultură însămânțate cu *Candida albicans* pe care s-au aplicat uleiuri de: arbore de ceai, oregano, chimen negru și coriandru în concentrație de 20 % la 24 h și 48

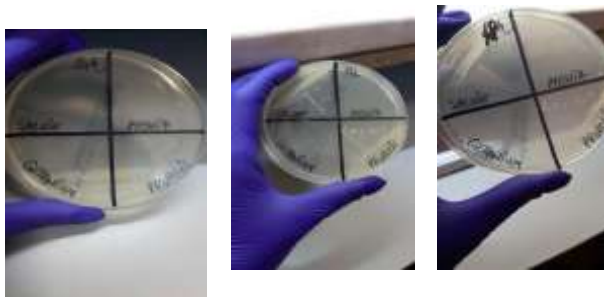
Plăcile au fost lăsate încă 24 de ore la termostat. La 48 h s-a făcut citirea rezultatului: candida a fost sensibilă numai la uleiul de oregano.

II. Experimente de 72 h

a. Plăcile de candida cu ulei de salvie, ulei de mentă, ulei de geranium și tinctură de propolis au fost ținute 72 h la termostat.

Au fost realizate diluțiile de 200 μ l substanță/ 800 μ l ser fizologic pentru uleiurile esențiale, iar tinctura de propolis a fost folosită direct din sticlăuță.

După cele 24 de ore toate cele 4 substanțe au acționat inhibitor asupra culturilor de candida.



(a)

(b)

(c)

Figura 19 (a, b, c) Plăci de cultură însămânțate cu *Candida albicans* pe care s-au aplicat uleiuri de salvie, mentă, geranium în concentrație de 20%, precum și tinctură de propolis la 24h și 48 h

La 48 h s-a făcut citirea din nou și am constatat că doar uleiul de geranium și puțin uleiul de mentă au acționat inhibitor, la fel și după 72 de ore de la însămânțare.

b. Am utilizat ulei de lavandă, ulei de eucalipt, tinctură de pătlagină, precum și tinctură de mușetel.

În primele 24 h lavanda și eucaliptul au reușit să înlăture candida, însă după cele 48 h și respectiv 72 h, a reapărut candida.

c. În experiment am avut tinctură de gălbenele, ulei esențial de aloe vera și graviola (2 capsule de extract pur).

Am realizat diluții de 200 μ l substanță / 800 μ l ser fiziologic; tinctura a fost utilizată direct din sticlăuță, iar capsulele de graviola au fost dizolvate în 4 ml ser fiziologic.

d. Pe plăcile de candida am pus ulei esențial de cimbru, soluție de ioni de argint Ag^+ super concentrat (Ag coloidal 30 ppm), soluție de ioni de Au și Ag cu particule de dimensiuni nanometrice în apă structurată și distilată (15 ppm, apă distilată și structurată). Am prelevat câte 5 ml de soluție de ioni de Ag (super concentrat) și cca 5 ml soluție ioni de Au și Ag (câte 4 puf-uri) fix cum erau în sticlăuțe (fără alte diluții). S-a dizolvat o colonie de *C. albicans* în soluțiile luate ca atare și apoi s-a însămânțat pe mediu Sabouraud și au fost lăsate 72 h la termostat.

Pentru uleiul de cimbru am prelevat 200 μ l substanță și am adăugat 800 μ l ser fiziologic. La uleiul de cimbru, ionii de argint (Ag^+) și ioni de aur și argintsensibilitatea s-a văzut de la început și ulterior, adică 48 h și, respectiv, 72 h.

e. Apa Doamnei (apă terapeutică bogată în Ca și Mg)

În 2 ml de produs numit “apa Doamnei” am pus o colonie de Candida Albicans, pâna când s-a format o concentrație de 0,5 McFarland. Din acesta am însămânțat pe mediu Sabouraud. După 3 zile am putut observa că rezultatul este nul; produsul utilizat a fost ineficient.

f. În 2 ml de substanță (Bitter din 50 de plante produs de Dacia Plant, picături suedeze de la BANO și otet de mere) am dizolvat 2-3 colonii de candida; de asemenea, cele 2 pastile de Para Fight de la Coral, au fost dizolvate în 4 ml de ser fiziologic, am adăugat 2-3 colonii de candida; le-am pus pe o placă și le-am lasat 3 zile la termostat pentru a citi rezultatul.

După primele 24 de ore s-a putut observa faptul că bitterul obținut din 50 de plante, precum și picăturile suedeze au acționat inhibitor asupra culturilor de candida. După 72 de ore de la începerea experimentului, cele doua tipuri de bitter, picături suedeze și bitter din 50 de plante cu ganoderma (produs românesc realizat de Dacia Plant) au inhibat evident culturile de candida (Figura 26).

g. Oțet din vin de concentrație 9%

Am dizolvat în ser fiziologic o colonie de Candida albicans pâna la atingerea concentrației McFarland. Am realizat 3 diluții ale oțetului produs din vin care se găsește în comerț.

Diluția 1/2

Am amestecat 0,5 ml din diluția realizată inițial cu 0, 5 ml oțet.

Diluția 1/4

Am prelevat 0, 25 ml din diluția obținută inițial peste care am adăugat 0,75 ml oțet.

Diluția 1/8

La 0, 125 ml din diluție am adăugat 0, 875 oțet din vin.

Toate diluțiile astfel obținute s-au aplicat pe mediu Sabouraud însămânțat cu Candida Albicans și au fost termostatare la temperatura de 37°C.

După 24 de ore s-a putut observa o acțiune inhibitorie la ultima diluție (1/8), însa după 42 h, respectiv 72 ore rezultatul este nul; candida a revenit.

Discuții

Substanțele care au fost analizate în studiu au fost preparate în diferite diluții și aplicate prin intermediul unor rondeluri absorbante așa cum se procedează în cazul fungigramelor sau al antibiogramelor. Am analizat apoi mărimea diametrului zonelor de inhibiție și liză a coloniei miceliene la diferite intervale de timp (la 24 ore, la 48 ore și 72 de ore) (Moroianu O. - N. et al, 2018). Pentru 24 de h uleiurile de lavandă, eucalipt, salvie și tinctura de propolis au avut un efect inhibitor asupra Candidei albicans. Uleiul de mentă a acționat puțin mai mult de 24 de h, însă cel mai bine s-au comportat uleiurile de oregano, cimbru și geranium, bitterul din 50 de plante cu ganoderma, precum și picăturile suedeze, soluția superconcentrată de Ag precum și soluția cu ioni de Ag și Au.

În cazul experimentelor întreprinse pe parcursul a 48 de h s-a observat o acțiune inhibitorie a uleiurilor de arbore de ceai și oregano pentru primele 24 de h față de uleiul de chimen negru și coriandru existente pe aceeași placă, ulterior, la 48 de h, a rămas doar uleiul de oregano cu acțiune inhibitorie. Uleiul de rozmarin, uleiul de ienupar, tinctura de gălbenele și capsula care conține graviola (1capsulă dizolvată) nu au acționat. Pentru experimentele următoare (de 72 de h), după 24 de h de la însămânțare, uleiurile de salvie, mentă, geranium și tinctura de propolis au înlăturat candida, la 48 de h și 72 h doar

uleiurile de geranium și mentă sunt puțin eficiente față de uleiul de salvie și tinctura de propolis. Uleiul de lavandă este eficient pe parcursul celor 24 de h comparativ cu uleiul de eucalipt, tincturile de pătlagină și mușetel.

Soluția concentrată de Ag, soluția cu ioni de Ag și Au cu particule de dimensiuni nanometrice și uleiul esențial de cimbru, ajută la înlăturarea micozei; produsul intitulat “Apa Doamnei” este inefficient în tratarea candidiei. Bitterul din 50 de plante cu ganoderma, picăturile suedeze și mai puțin otetul de mere au inhibat candida în primele 24h, comparativ cu produsul “parafight” (de la Coral); în continuare doar bitterul din 50 de plante cu ganoderma (bitter românesc de la Dacia Plant) și picăturile suedeze produse de BANO și-au menținut capacitatea de inhibare a candidiei. Pentru otetul de vin, diluția de 1/8, a ajutat la stoparea dezvoltării candidiei pentru primele 24 de h, după care candida a crescut în cele 4 diluții propuse pentru analiză. Putem combina ulei esențial de cimbru cu lavandă, ulei de geranium cu salvie și mentă, tinctură de propolis cu cea de mușetel, ulei de aloe vera cu ulei din arbore de ceai sau, eventual, mai adăugăm ulei de mentă. Cu siguranță, otetul de vin consumat frecvent ar ajuta în stoparea înmulțirii candidiei sau folosit în băi sau prin spălarea locului infestat cu soluție de otet de vin, respectiv diluție 1/8 așa cum am descoperit în studiu.

Soluțiile coloidale de Ag și cea cu ioni de Ag și Au au fost foarte eficiente, precum și bitterul din 50 de plante și picăturile suedeze, ceea ce înseamnă că le putem utiliza cu încredere în tratamentul Candidiei albicans.

Concluzii

La finalul studiului am remarcat o acțiune inhibitorie asupra culturilor de Candida albicans determinate de uleiurile esențiale de oregano, cimbru, geranium, de bitterul din 50 de plante de leac cu ganoderma, picăturile suedeze, soluția superconcentrată de Ag și soluția cu ioni de Ag și Au.

În cazul uleiurilor de mentă, eucalipt, salvie, lavandă, tincturii de propolis, otetului de mere și soluției de otet de vin 9% (cu diluție de 1/8) efectul antifungic a fost pentru o perioadă de timp scurtă, coloniile regenerându-se, din acest motiv ar fi recomandabil ca tratamentul cu aceste substanțe să fie repetat la anumite intervale de timp pentru combaterea cu succes a Candidiei albicans.

Rezultate favorabile în inhibarea sau liza culturilor de Candida albicans s-au obținut în urma experimentelor de 48 h și, respectiv, 72 de h după aplicarea:

- uleiului esențial de oregano;
- uleiului esențial de geranium;
- uleiului esențial de cimbru;
- bitterului din 50 de plante de leac cu ganoderma;
- picăturilor suedeze;
- soluției coloidale superconcentrată cu Ag;
- soluției coloidale cu ioni de Ag și Au.

Se pot folosi în mod repetat produsele mai sus menționate în scopul obținerii unei vindecări de durată.

5.4 Studiu al acțiunii unor substanțe chimice și naturiste asupra culturilor de Candida Albicans (Olimpia-Nicoleta MOROIANU, Natalia ROȘOIU, Alina Raluca URSU, 2022)

În studiul de față am realizat mai multe experimente pe parcursul a 96 de ore, folosind atât produse naturale (uleiuri esențiale, tincturi etc), cât și chimice (bicarbonat de sodiu, acid citric, sare iodată), pentru a putea urmări acțiunea compușilor chimici asupra culturilor de *Candida albicans*.

Rezultate

În studiul acesta am cercetat acțiunea asupra candidiei a unor uleiuri esențiale de: ghimbir, lămâie, tămâie și neem, de cedru și cedru Siberian, de pelin, de magneziu, a tincturii de iod, a soluțiilor cu bicarbonat de sodiu, a cedrului de mere, a oțetului de mere, acidului citric, precum și a patru soluții ale acidului acetic 1M, pe o perioadă de 96 de ore.

În prima fază am realizat diluțiile necesare, după care am adăugat 2-3 colonii de *Candida* spp. Am amestecat și le-am lăsat la termostat aproximativ o oră. Ulterior, din emulsia obținută, am însămânțat pe placa Sabouroud și am introdus probele la termostat 24 h, 48h, ... ,96 h, citind rezultatul pentru fiecare caz.



Figura 31 (a, b, c, d, e, f, g) Plăci Petri însămânțate cu *Candida albicans* cu compușii chimici folosiți în studiu (tinctura de iod 1%, soluțiile bicarbonatului de sodiu, cedru de mere, oțet de mere, acid citric precum și cele patru soluții ale acidului acetic 1M, uleiuri de: ghimbir, lămâie, tămâie și neem, de cedru și cedru Siberian, de pelin, de magneziu) în concentrație de 20 %)

Experiment de 96 h (4 zile)

a. În primul experiment am utilizat cidru de mere, oțet de mere, sare iodată și acid citric.

Pentru prepararea soluției de acid citric am dizolvat 5 g de substanță (acid citric) în 20 ml ser fiziologic. Cidrul de mere și oțetul de mere au fost folosite în starea în care existau în comerț. Soluția de sare iodată a fost preparată din 5 g de sare iodată și 20 ml ser fiziologic.



(a)

(b)

Figura 32 Plăcă de cultură însămânțată cu *Candida albicans* și cidru de mere, oțet de mere, acid citric și sare iodată la 24 h (a) și 48 h (b)

Pentru cidrul de mere și oțetul de mere am observat sensibilitate în primele 24 de h de la însămânțare. După cele 48 h reapare candida în cazul celor 4 substanțe utilizate în studiu; există sensibilitate în cazul oțetului de mere și la 48 h și după, însă, nu în totalitate.

b. Bicarbonatul de sodiu: 5 g/ 20 ml ser fiziologic, respectiv 10 g/ 20 ml ser fiziologic. Tinctura de iod 2% a fost utilizată în starea ei nativă. Pentru soluțiile de bicarbonat de sodiu nu apare acțiune față de coloniile de *Candida albicans* în primele cele 4 zile de incubare. Tinctura de iod s-a dovedit foarte activă asupra coloniilor de *Candida* pe parcursul celor 4 zile.

c. Acidul acetic 1M

Pentru experimentul cu acid acetic am preparat în prima fază 4 soluții/probe ale acidului acetic 1 M (vezi tabelul V.1).

Tabel V.1. *Compoziția probelor de acid acetic analizate microbiologic (folosite în studiu)*

Nr.crt	Probe	Acid acetic 1M (ml)	Ser fiziologic (ml)	Raport volumetric (acid acetic/SF)
1.	I	1	5	1/ 5
2.	II	2	5	2/5
3.	III	3	5	3/5
4.	IV	4	5	4/5



(a)



(b)



(c)

(d)

Figura 37 Plăcă de cultură însămânțată cu *Candida albicans* pe care s-au aplicat cele patru soluții ale acidului acetic 1M la 24 h (a, b), 48 h, 72 h și, respectiv, 96 h

La 24 h de la însămânțare cu *Candida* se observă o anumită sensibilitate pentru soluțiile /probele II, III și chiar și la IV ale acidului acetic 1 M, dar nu suficientă.

Acidul acetic folosit pentru cele 48h, 72 h și 96 h, mai exact probele III și IV are un grad de acțiune fungicidă, însă *Candida albicans* nu dispăre definitiv.

d. Ulei de cedru siberian (ulei crud extras la rece din miez de semințe – pentru uz intern), ulei esențial de cedru, ulei de magneziu, ulei de pelin -200 μl ulei /800 μl ser fiziologic După cele 24 h, la uleiul esențial de cedru apare un grad de sensibilitate, spre deosebire de uleiul de cedru siberian pentru uz intern.

Cele patru substanțe folosite în experiment: ulei de cedru siberian, ulei de cedru, uleiul de pelin și uleiul de magneziu au fost inactive asupra *Candidei albicans*, pentru cele 4 zile de studiu experimental.

e. Ulei de ghimbir, lămâie, tămâie și neem-200 ml ulei/800 ml ser fiziologic

În cazul uleiurilor de: ghimbir, tămâie și lămâie apare o acțiune fungicidă în primele 24 de ore. După 48 h, acțiunea se menține doar la uleiul de ghimbir, puțin la cel de lămâie și puțin la cel de tămâie. La uleiul de ghimbir nu a reapărut candida la 72 h de la însămânțare; de asemenea, la uleiul esențial de ghimbir se observă acțiune fungicidă și după 96 h, comparativ cu uleiul de neem, respectiv, uleiul de tămâie și cel de lămâie. Uleiul de lămâie și cel de tămâie prezintă o anumită acțiune fungicidă de la început, până la finalizarea celor 96 de h; cu toate acestea, candida a continuat să reapară într-o cantitate foarte mică în cazul acestor substanțe, după 2 zile de la însămânțare.

Discuții

Au fost realizate diluțiile de 200 μl substanță/ 800 μl ser fiziologic pentru uleiurile esențiale, iar tinctura de iod aplicată avea concentrație de 2%.

Cidrul de mere și oțetul de mere s-au prelevat în starea în care existau în comerț. Sarea iodată, bicarbonatul de sodiu și acidul citric s-au folosit în soluții (în stare lichidă).

Pentru acidul acetic $\text{CH}_3\text{-COOH}$, 1 M, am realizat 4 probe diferite pentru studiul propus (vezi Tabelul IV.1) Aceste substanțe au fost fie sub formă de tincturi, fie sub formă de uleiuri esențiale sau altfel de soluții găsite în comerț.

Peste soluții am adăugat câteva colonii (2, 3) de *Candida* Spp.

Cidrul de mere și oțetul de mere aplicate în stare nativă, prezintă acțiune fungicidă în primele 24 h, comparativ cu soluția de sare iodată și soluția de acid citric utilizate în studiu. La tinctura de iod se observă acțiune fungicidă evidentă față de *Candida albicans* și mai puțin la oțetul de mere după cele 4 zile de la însămânțare cu *Candida albicans*.

Soluțiile de bicarbonat de sodiu utilizate nu au prezentat acțiune fungicidă față de *Candida albicans*; s-au dovedit ineficiente la concentrațiile folosite. În schimb, tinctura de iod și-a menținut efectul antifungic pentru cele 4 zile. La uleiul de ghimbir, tămâie și lămâie apare un grad de acțiune fungicidă în primele 24 de ore, comparativ cu uleiul de neem, la fel și după 48 h de la însămânțare cu *Candida Albicans*. De asemenea, după 72 h și 96 h apare sensibilitate la uleiul de ghimbir, tămâie și puțin la uleiul de lămâie față de uleiul de neem, care nu a fost de eficient asupra candidiei. S-a observat că cele patru substanțe folosite în experiment: ulei de cedru siberian, ulei de cedru, uleiul de pelin și uleiul de magneziu, au fost ineficiente asupra *Candidei Albicans*, pe parcursul celor 4 zile de studiu, cu excepția uleiului de cedru, care pentru 24 h a prezentat acțiune fungicidă față de candida. Uleiul de lămâie și cel de tămâie prezintă o anumită sensibilitate de la început, până la finalizarea celor 96 de h, însă candida a continuat să reapară în cazul acestor substanțe, la concentrațiile folosite. Oțetul de mere folosit în alimentație, poate constitui un remediu profilactic, dar și curativ în tratarea *Candidei*.

Candida Albicans prezintă sensibilitate pentru primele 24 h la uleiurile de ghimbir, tămâie și lămâie și mai mult chiar, pentru cele 96 h de la însămânțare la cel de ghimbir, pentru diluțiile de 200 μl substanță/800 μl ser fiziologic. Din acest motiv, substanțele menționate pot avea indicații profilactice și curative asupra *Candidei Albicans*.

Tinctura de iod și-a dovedit efectul antifungic pentru cele 96 h de cercetare.

Concluzii

Pentru uleiuri am utilizat 200 µl substanță (uleiul respectiv)/ 800 µl ser fiziologic la care am adăugat câteva colonii (2, 3) de Candida spp.

Pentru oțetul de mere, în primele 24 h apare sensibilitate a coloniilor de Candida, comparativ cu cidrul de mere, soluția de sare iodată și acidul citric. După cele 24 h se observă o oarecare sensibilitate a coloniilor de Candida la oțetul de mere, până la 96 de h de evaluare, însă nu total; Candida reapare. Cele 2 soluții de bicarbonat de sodiu pe care le-am folosit în studiu s-au dovedit inactice în tratarea Candidei.

Pentru cele 4 zile se observă o oarecare sensibilitate la probele III și IV ale acidului acetic 1M, dar nu suficientă pentru a combate candida. O concentrație mai mare a soluțiilor de acid acetic (acid acetic ce este denumit uzual și oțet), ar putea să influențeze favorabil tratarea Candidei albicans.

La uleiul de ghimbir și tinctura de iod se observă sensibilitate marcată a coloniilor de Candida și puțin la oțetul de mere, după cele 4 zile de studiu.

Candida este sensibilă total la tinctura de iod și uleiul de ghimbir.

Rezultatele experimentelor ne relevă faptul că pentru a trata micozele cutanate și ale mucoaselor, putem utiliza extracte din plante (tincturi sau uleiuri) ce pot fi aplicate local. Astfel, este recomandat uleiul de ghimbir, care a prezentat un efect fungicid maxim asupra coloniilor de Candida albicans, după cele 96 de ore de incubare.

Concentrația recomandată este de 20%, în aplicații zilnice, până la o vindecare totală a leziunilor.

De asemenea, uleiul de tămâie și cel de lămâie, determină sensibilitate a coloniilor de Candida în primele 24 de ore și, ulterior, într-o măsură mai mică după 48 de ore de la însămânțare, până la cele 96 de ore. Putem considera că uleiul de tămâie și cel de lămâie folosite în concentrații mai mari ar da un rezultat antifungic bun sau, eventual, prin amestecarea lor cu alte substanțe fungicide. Candida albicans prezintă sensibilitate pentru oțetul de mere, în special pentru primele 48 ore, și într-o măsură ceva mai mică ulterior. Acesta ar putea fi folosit mai des în alimentație, cu scop de profilactic.

Tinctura de iod și uleiul de ghimbir și-au arătat rolul antifungic în tratarea candidei pentru cele 4 zile de studiu.

5.5 Studiu privind acțiunea a 9 produse naturiste și a soluției coloidale de Cu asupra culturilor de Candida albicans (Olimpia-Nicoleta Moroianu, Nelu Doru Popescu, Alina Raluca Ursu, Tony Laurențiu Hangan, Natalia Roșoiu, 2022)

În studiul de față am realizat mai multe experimente pe parcursul a 120 de ore, folosind atât produse naturale (uleiuri esențiale, tincturi etc), cât și chimice (soluție coloidală de Cu) pentru a putea descoperi substanțele cu acțiune antifungică asupra culturilor de Candida albicans.

Lucrarea evidențiază acțiunea a 9 substanțe naturiste și a soluției coloidale de Cu asupra culturilor de Candida Albicans.

Ulterior, pentru substanțele naturiste care au inhibat candida, am prelevat părți de colonie de pe plăci pentru a fi examinate la microscopul optic; pentru colorare am folosit albastru de metilen 3%. După uscare am examinat la microscop.

Rezultate

Experiment de 5 zile

Am folosit 800 μ l ser fiziologic + 200 μ l ulei esențial. Am însămânțat pe mediu Sabouraud. Am termostatat culturile timp de 120 h, la temperatura de 37 °C.

Am efectuat citiri și interpretări la 24 h, 48 h, 72 h, 96 h și 120 h. După 24 ore de la însămânțare culturile de *Candida albicans* prezintă sensibilitate la uleiul de scorțișoară, comparativ cu uleiul de musk alb și uleiul de cânepă.

Soluția de cupru coloidal, de asemenea prezintă acțiune fungicidă la 24 ore de la însămânțare, comparativ cu uleiurile: de opium, cimbru de cultură și tinctura de lemn dulce. Uleiul de oregano a inhibat culturile de *Candida albicans* la 24 de ore de la aplicare, față de uleiul de santal.

La 24 h de la aplicare am realizat lame colorate cu albastru de metilen, pe care le-am analizat la microscopul optic, având obiectiv de 100x.

Am vizualizat la microscopul optic lamele pentru substanțele care au prezentat sensibilitate în prima zi.

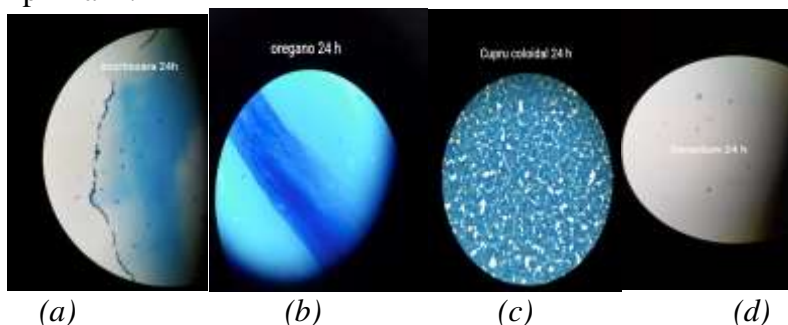


Figura 42 Culturi miceliene pe care s-au aplicat uleiuri de scorțișoară, oregano, geranium, respectiv soluție coloidală de cupru după termostatare timp de 24 de ore, examinate la microscopul optic cu obiectiv x40

Se observă o micșorare a miceliilor în primele 24 de ore în cazul uleiurilor de geranium și uleiului de oregano față de soluția de cupru coloidal și uleiul de scorțișoară.

La scorțișoară și geranium se poate observa sensibilitate la 48 de h de la însămânțare comparativ cu uleiurile de: musk alb și cânepă.

Cele 4 substanțe: uleiul de opium, soluția de Cu coloidal, tinctura de lemn dulce și uleiul de cimbru de cultură nu inhibă dezvoltarea candidiei la 48 ore de la însămânțare.

Candida albicans este sensibilă la uleiul de oregano la 48 ore de la însămânțare comparativ cu uleiul de santal.

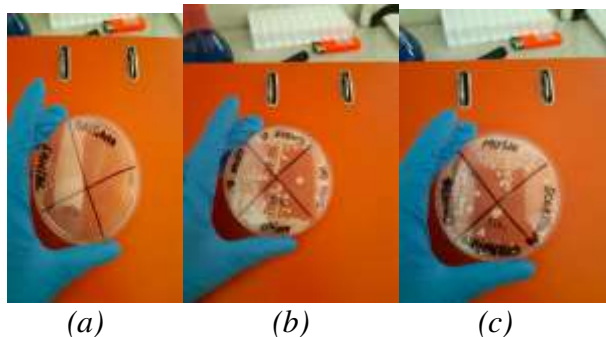


Figura 44 Plăci de cultură însămânțate cu *Candida albicans* pe care s-au aplicat uleiuri de musk alb, scorțișoară, geranium, cânepă, opium, cimbru de cultură, oregano și santal

în concentrație de 20 %, precum și tinctură de lemn dulce, respectiv soluție coloidală de cupru la 72 h

După 72 h de la însămânțare, dintre toate substanțele folosite în studiu, uleiul de oregano a inhibat dezvoltarea *Candida albicans* și, puțin, soluția de Cu coloidal.

Astfel, am urmărit la microscop cele două plăci cu substanțele respective.

Am putut observa la microscop micșorarea numărului de micelii în cazul uleiului de oregano și a creșterii lui pentru uleiul de scorțișoară după 3 zile de termostare.

După 96 h de la însămânțare cu *Candida albicans*, dintre toate substanțele folosite în studiu, doar uleiul de oregano a inhibat dezvoltarea *Candida*.

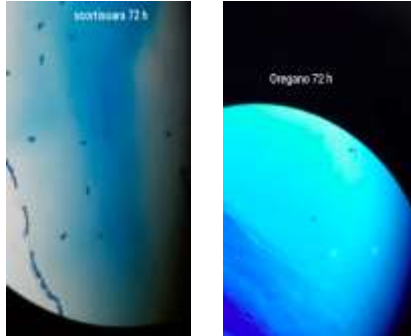


Figura 45 Culturi miceliene pe care s-u aplicat uleiuri de oregano, respectiv scorțișoară, după termostatare timp de 72 h, examinate la microscopul optic având obiectiv 100 X
În urma celor 5 zile de la însămânțare cu *Candida albicans* doar uleiul de oregano prezintă acțiune antifungică (vezi figura de mai sus).

Discuții

După 24 h și 72 h de la însămânțare am realizat lame colorate cu albastru de metilen, pe care le-am analizat la microscopul optic, cu obiectivul de 40x.

Am constatat următoarele:

- Soluția de cupru coloidal a inhibat parțial coloniile micotice în primele 24 de ore, apoi am remarcat creșterea *Candida albicans* în următoarele ore pe mediul de cultură, atât macroscopic cât și la microscop.
- Uleiul de scorțișoară a inhibat cultura parțial, în primele 24 h, cultură care a reapărut pe mediu după 48 h.
- Uleiul de geranium a inhibat creșterea culturii pentru 24 h, *Candida Albicans* crescând apoi pe mediu după 48 de ore.
- Uleiurile de santal, musk alb, opium precum și tinctura de lemn dulce sau răculeț nu au fost active în tratarea *Candida* pe parcursul celor 5 zile coloniile de *Candida* crescând.
- Uleiul de oregano a determinat inhibiția în totalitate a culturii, observându-se la microscop cât și pe mediu lipsa coloniilor de *Candida albicans* până la sfârșitul celor 120 h.

Concluzii

Pe parcursul celor 120 de h se poate observa că numai uleiul de oregano și-a menținut capacitatea de inhibare, comparativ cu celelalte uleiuri: de musk alb, scorțișoară, geranium, cânepă, opium, cimbru de cultură (*Thymus vulgaris*) și santal în concentrație de 20 %, precum și tinctură de lemn dulce (rădăcini de *Glycyrrhiza glabra*), respectiv soluție coloidală de cupru. Se poate face observația că uleiul esențial din

cimbru de cultură este mai puțin eficient decât uleiul esențial de cimbru folosit într-un alt experiment. Astfel, uleiul esențial de cimbru de cultură nu poate stopa dezvoltarea candidiei nici măcar în primele 24 de h comparativ cu uleiul esențial de cimbru care a fost eficient pe parcursul celor 3 zile analizate în studiul anterior.

De asemenea, se observă în cazul uleiului de scorțișoară, chiar și a uleiului de geranium și a soluției de cupru coloidal faptul că pe parcursul celor 120 de h, candida s-a menținut la același nivel, ceea ce ne duce la idea că uleiurile de scorțișoară și geranium, precum și soluția de cupru coloidal, folosite în concentrații mai mari, ar putea inhiba cu succes dezvoltarea candidiei.

5.6 Studiu cu 15 substanțe naturiste și soluție coloidală de platină asupra *Candida albicans* (Olimpia-Nicoleta Moroianu, Nelu-Doru

Popescu, Natalia Roșoiu; în curs de publicare la o revistă bine cunoscută)

În acest studiu (pe parcursul a 5 zile) am folosit uleiuri: ulei de cătină albă de uz intern (*Hippophae rhamnoides*), ulei de muștar presat la rece, Biomicin forte A 15- uleiuri esențiale naturale (produs compus din ulei de floarea soarelui, ulei esențial de cimbru – *Thymi aetheroleum*, ulei esențial de cuișoare – *Caryophylli floris aetheroleum*) și, tincturi de: coada calului, brusture, anghinare, rostopască, coada șoricelului, ardei iute, suc, anumite produse precum sirop - BIOSEPT A 13 – sirop din plante medicinale cu miere, vitamina C și propolis, suc de aronia (în concentrație de 15%, suc de lămâie, suc de pulpă de struguri minim 20%), capsule de substanțe 100% naturale - turmeric 250 & piper (pastile de la PRONATURAL) și soluție coloidală de Pt.

REZULTATE ȘI DISCUȚII

Experiment de 5 zile

În prima fază a experimentului am pregătit substanțele necesare; am dizolvat pastila de turmeric & piper în SF, capsula de BIOMICIN FORTE A15 (capsulă moale) a fost pregătită pentru studiu și uleiul de cătină albă a fost dizolvat în SF; am tăiat capsula; o capsulă de Biomicin forte A15 conține 250 mg uleiuri; am pisat /marunțit pastila de turmeric& piper (care cântărește 250 mg). Tincturile au fost utilizate în starea lor normală. De asemenea, sucul de aronia și soluția coloidală de platină au fost folosite în starea lor existentă. Ulterior am adăugat câteva colonii de *Candida* spp. (cam 2-3).

Am realizat citiri și interpretări la 24 h, 48 h, 72 h, 96 h și 120 h.

a. Am folosit tincturi de: coada calului (de la Dacia Plant), coada șoricelului (produsă de Hofigal), rostopască și brusture (de la Dacia Plant).

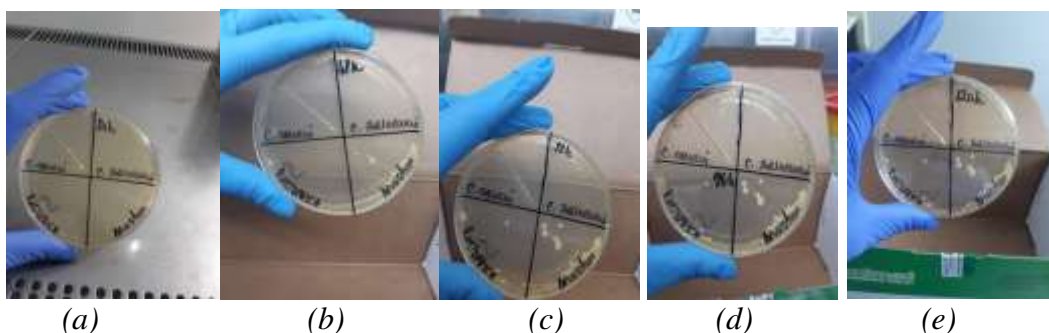


Figura 50 (a, b, c, d, e) Plăci de cultură însămânțate cu *Candida albicans* pe care s-au aplicat diferite tincturi (de coada calului, coada șoricelului, rostopască și brusture) la 24 h, 48 h, 72 h, 96 h și 120 h

După 24 h de la însămânțare tincturile de: coada calului și coada șoricelului au avut acțiune antifungică în tratarea candidiei spre deosebire de tincturile de rostopască și brusture. La 48 h de la însămânțare a fost același rezultat.

Pentru substanțele cu efect inhibitor am realizat lame colorate la 48 h, 72 h, 96 h și 120 h de la însămânțare pe care le-am pus la microscopul optic având obiectiv cu imersie /claritatea x100 pentru vizualizare în profunzime. Colorația a fost realizată cu violet de gențiană 3%.

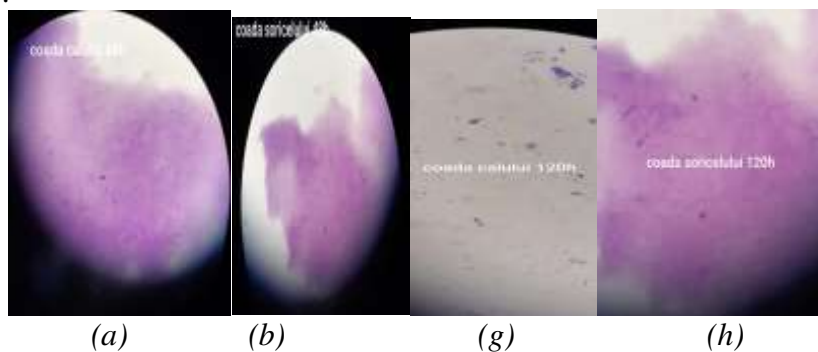


Figura 52 Culturi miceliene pe care am pus tincturi de Coada calului și Coada șoricelului după termostatare timp de 48 h (a, b) și 120 h (g, h) examinate la microscopul optic cu obiectiv x100

În cele 5 zile de studiu cele două tincturi de: coada calului (de la Dacia Plant) și coada șoricelului (produsă de Hofigal) și-au menținut capacitatea antifungică față de *Candida albicans*, iar tincturile de: rostopască și brusture nu au prezentat efect inhibitor în această perioadă.

Aspectul microscopic al culturilor de *Candida* a fost puțin diferit pentru substanțele avute în studiu: tinctura de coada șoricelului și tinctura de coada calului; am vizualizat filamente caracteristice *Candidaei albicans* și o micșorare miceliană în aceste cazuri.

b. Am utilizat tincturi de: anghinare (de la Dacia Plant) și ardei iute (*Capsicum annum*, fructe, 10 % - de la Faunus Plant), ulei de muștar presat la rece (de la Herba Sana) și ulei de cătină albă (produs de Hypericum Impex S.R.L.), produs 100 % natural. Pentru cele două uleiuri am realizat o concentrație de 30 % dizolvând 300 μ l substanță /700 μ l SF.

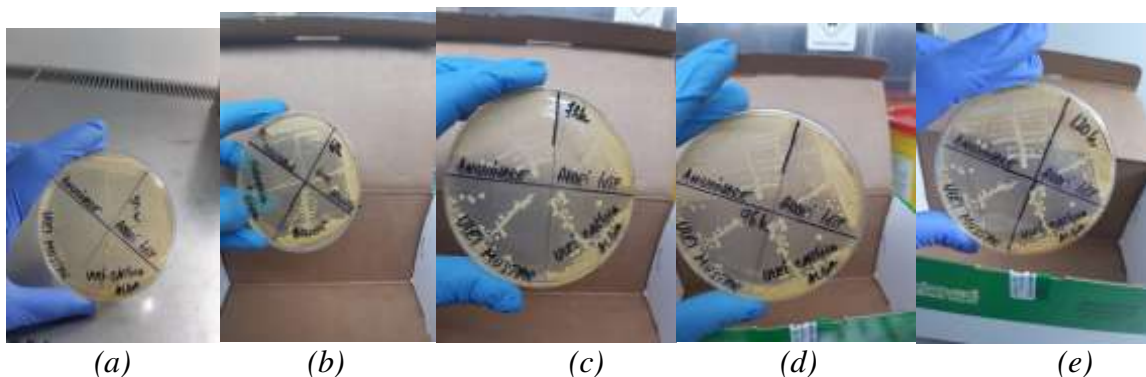


Figura Plăci de cultură însămânțate cu *Candida albicans* pe care s-au aplicat uleiuri de muștar și cătină albă în concentrație de 30 % și tincturi de: anghinare și ardei iute la 24 h (a), 48 h (b), 72 h (c), 96 h (d) și 120 h (e)

La 24 h de la însămânțare tinctura de ardei iute a avut efect antifungic. La 48 h de la însămânțare toate cele 4 substanțe: tincturile (de anghinare și ardei iute), uleiul de

muștar și uleiul de cătină albă nu au acțiune antifungică. De asemenea, la 72 h, 96 h și 120 h cele 4 substanțe nu pot distruge *Candida albicans*. Pentru tinctura de ardei iute n-am mai realizat lame colorate deoarece la 48 de h de la însămânțare a reapărut candida.

c. Soluție coloidală de platină, suc de aronia, turmeric 250 & piper (pastile) - produs de la PRO NATURAL și produsul BIOSEPT A13—sirop. Sucul de aronia este de fapt o combinație de suc de aronia 15%, suc de lămâie, suc de pulpă de struguri minim 20 %; a fost folosit direct din sticlă, asemenea și soluția coloidală de platină (produs de la Aqua Nano 480ml, 10 ppm). Am obținut soluția de TURMERIC 250 & PIPER dizolvând o pastilă din acest produs, adică pulbere din rădăcină Curcuma/ Turmeric (*Curcuma longa*) 200 mg & pulbere din fructe de piper negru – *Piper nigrum* 50 mg ; astfel, am dizolvat pulberea dintr-o pastilă în 4 ml de ser fiziologic. Siropul BIOSEPT- A 13 cu miere, vitamina C și propolis de la Fares a fost folosit în starea existentă; acesta este format din mai multe substanțe, precum: miere de albine minimum 64%, extracte apoase de: echinacea (*Echinacea herba*), cimbrisor (*Serpylli herba*), șovârv (*Origanum herba*), lichen de piatră (*Lichen Islandicus*), scorțișoară (*Cinnamomi cortex*), rizomi de ghimbir (*Zingiberis rhizoma*), frunze de măslin (*Olea folium*), cuișoare (*Caryophylli flos*), extract uscat de *Astragalus membranaceus* – min. 35 %, extract hidroglicerol de propolis 1, 2%; vitamina C 1%; uleiuri esențiale de: geranium (*Pelargonium aetheroleum*), lămâie (*Citri aetheroleum*), scorțișoară (*Cinnamomi aetheroleum*), roiniță (*Melissae aetheroleum*)-minimum 0, 045 % în proporție variabilă. În cele 5 zile de studiu numai produsul turmeric 250 & piper a inhibat creșterea culturii de *Candida albicans* din prima zi comparativ cu soluția coloidală de Pt, sucul de aronia și produsul BIOSEPT A13 —sirop cu miere, vitamina C și propolis de la Fares și a menținut această capacitate până la final. Am realizat lame pentru microscopul optic în cazul produsului cu turmeric 250 & piper la 48 h, 72 h și 120 h. Pentru produsul cu turmeric & piper am observat o scădere a miceliilor la microscopul optic.

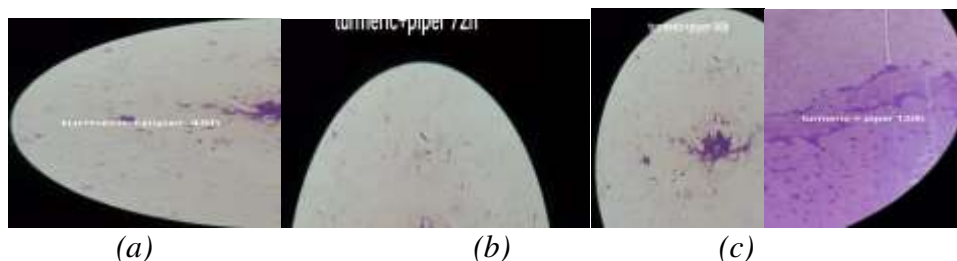


Figura 55 Culturi miceliene pe care am aplicat pastila de turmeric 250 & piper (dizolvată în SF) după termostatare timp de 48 h (a), 72 h (b), 96 h (c) și 120 h (d) examinate la microscopul optic cu obiectiv x 100

d. BIOMICIN FORTE A15, produs de Fares, care se găsește sub formă de capsule; este format din uleiuri de floarea soarelui, ulei esențial de cimbru – *Thymi aetheroleum*, ulei esențial de cuișoare – *Caryophylli floris aetheroleum*. Produsul a fost utilizat ca atare; am tăiat capsula cu uleiuri, apoi am adăugat 3 colonii de *Candida albicans*. Încă din primele 24 h *Candida albicans* a crescut; au apărut 2-3 colonii pe placa cu BIOMICIN forte A15. În cele 120 h de studiu a crescut *Candida albicans* în prezența produsului natural Biomicin forte A15, motiv pentru care nu am mai realizat plăci pentru microscopul optic.

Concluzii

În cele 5 zile de experiment am constatat faptul că tincturile de coada calului (de la Dacia Plant) și coada șoricelului (produsă de Hofigal) spre deosebire de tincturile de: rostopască și brusture (de la Dacia Plant) au inhibat dezvoltarea *Candida Albicans* din prima zi până în ultima zi de experiment. Tinctura de ardei iute (de la Faunus Plant) a avut efect antifungic pentru 24 h comparativ cu tinctura de anghinare (de la Dacia Plant), uleiul de muștar presat la rece (de la Herba Sana) și uleiul de cătină albă (produs de Hypericum Impex S.R.L.) 100/% naturali. În cele 5 zile de experiment tinctura de anghinare (de la Dacia Plant), uleiul de muștar presat la rece (de la Herba Sana) și uleiul de cătină albă (produs de Hypericum Impex S.R.L.) nu pot stopa dezvoltarea *Candida albicans*. În cazul tincturii de ardei iute, putem propune folosirea acestui produs de mai multe ori sau în combinație cu alte substanțe antifungice, eventual, în scop preventiv, consumăm ardeiul iute la masă. Pastila de turmeric 250 & piper (produs de la PRO NATURAL) față de soluția coloidală de platină, suc de aronia (de fapt combinație de suc de aronia 15%, suc de lămâie, suc de pulpă de struguri minim 20 %) și produsul BIOSEPT A13 –sirop cu plante medicinale, miere, vitamina C și propolis de la Fares a avut efect antifungic în cele 120 h de studiu.

BIOMICIN FORTE A15, produs de Fares (sub formă de capsule și format din uleiuri de floarea soarelui, ulei esențial de cimbru – *Thymi aetheroleum*, ulei esențial de cuișoare – *Caryophylli floris aetheroleum*) nu are acțiune antifungică în tratarea *candida* pentru cele 120 de h de evaluare.

De asemenea, pe plăcile colorate cu violet de gențiană și produsele care inhibă dezvoltarea *candida* (tincturile de: coada calului (de la Dacia Plant) și coada șoricelului (produsă de Hofigal), precum și capsulele de turmeric & piper 250 s-a putut observa la microscopul optic micșorarea numărului de miceli de *candida*.

În concluzie, cele 3 substanțe avute în studiu: tincturile de: coada calului (de la Dacia Plant), de coada șoricelului (produsă de Hofigal Plant) și capsulele de turmeric 250& piper pot fi utilizate cu succes în stoparea dezvoltării *Candida albicans* și într-o mai mică măsură sau, eventual, în mod repetat pentru un efect de durată putem apela și la tinctura de ardei iute (de la Faunus Plant) fie separat, fie în combinație cu alte substanțe naturiste cunoscute ca antifungice.

5.7 Modificări evidențiate prin microscopia electronică de transmisie (TEM) în culturi de *Candida Albicans* inoculate cu ulei de oregano (Olimpia-Nicoleta Moroianu, Nelu-Doru Popescu, Constanța Ștefanov, Nicolae Dobrin, Natalia Roșoiu, 2022)

Pentru microscopia electronică cu transmisie (TEM) am prelevat 2 probe din mediul Sabouroud însemănat cu eșantioane de *Candida albicans*, dintr-un sortiment etalonat, denumit ATCC; mediul a fost tratat inițial cu ulei esențial de oregano; am introdus placa la termostat, la temperatura standard de 37°C; aceasta a fost ținută 72 h la termostat (Moroianu O-N et al, 2018), (Moroianu O. et al, 2022) (Moroianu O. - N., 2022). După aceste 72 h în care *Candida albicans* a fost și inhibată de uleiul de oregano, ulei care conține carvacrol (Nostro A., Papalia T., 2012 și timol (Guarda A. et al, 2011), am secționat materialul necesar TEM.

Secțiunile fine s-au colorat dublu cu acetat de uranil și acetat de plumb, după care s-au examinat la un **Microscop Tecnai T12 produs de FEI**, care se găsește la Facultatea de Medicină a Universității “Ovidius” din Constanța.

Discuții și rezultate

Evaluarea secțiunilor

Caracterizarea în ansamblu s-a efectuat utilizând microfotografiile efectuate la mărimi de x 2900 - x 30000. Dintre acestea am selectat câteva imagini reprezentative și ulterior am interpretat ceea ce am obținut.

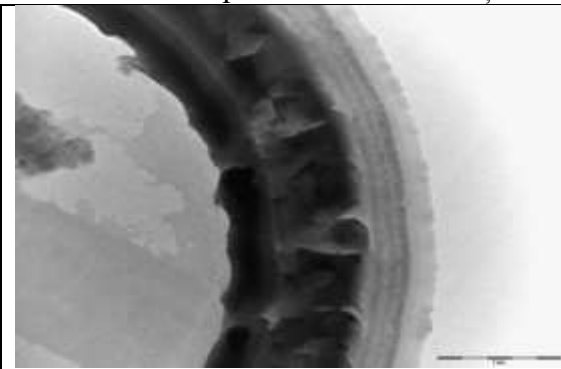


Figura 72 Microfotografie mărime x 23000, cultură de *Candida albicans* inoculată cu ulei esențial de oregano.

Se poate observa disocierea dintre peretele celular și membrană.

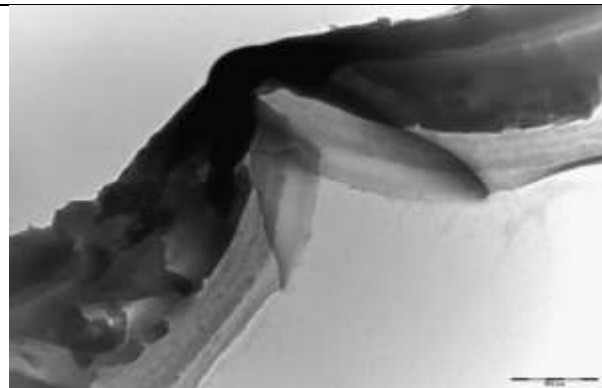


Figura 73 Microfotografie mărime x 30000, cultură de *Candida albicans* inoculată cu ulei esențial de oregano.

Se poate observa, de asemenea, disocierea dintre peretele celular și membrană.

Concluzii

Uleiul esențial de oregano poate fi folosit cu succes ca antifungic pentru afecțiunile determinate de *Candida Albicans*. Acest antifungic acționează prin disocierea dintre peretele celular și membrana candidiei datorită timolului și carvacrolului din compoziție. Acțiunea antifungică a uleiului esențial de oregano este ireversibilă și are un efect remanent.

V.8 STUDIU ASUPRA FACTORILOR INTERNI ȘI EXTERNI IMPLICAȚI ÎN PATOGENIA AFECȚIUNILOR DETERMINATE DE LEVURI DIN GENUL ȘI SPECIA CANDIDA (Moroianu Olimpia-Nicoleta, Popescu Nelu-Doru, Gurgăș Leonard, Roșoiu Natalia, Olgun Aziz; în curs de apariție la o revistă bine cunoscută)

Studiul s-a desfășurat pe o pacientă în vârstă de 26 de ani care s-a prezentat la cabinetul medical cu o afecțiune în zona vaginală. Au fost prelevate probe.

Discuții

Pacienta M.C., în vârstă de 26 ani, a acuzat disconfort în zona vaginală, mai exact mâncărime, prurit și miros neplăcut.

Candida albicans a fost izolată în secreția vaginală. Am pus probe spre analiză pe plăci Petri care au fost lăsate 72 h la termostat la 37 °C, pentru a face observații.

În studiul de față am utilizat un sistem de identificare al candidiei, denumit Candifast.



(a)



(b)

Figura 78 Sistem de identificare Candifast

Candifast este un kit de identificare bazat pe teste de fermentare și pe determinarea prezenței ureazei. Mineralele: cupru și zinc au rol în sporirea imunității și creșterea fertilității (Vandeputte P. et al, 2012).

Acest test poate identifica 8 specii de Candida și poate preciza dacă tulpina testată face parte din genurile Trichosporon, Geotrichum sau Rodothorula, dar fără a putea preciza genul sau specia. Candifast conține și un kit de testare a sensibilității. Pot fi identificate următoarele tulpini de Candida: Candida albicans, Candida tropicalis, Candida glabrata, Candida krusei. Kitul de identificare este bazat pe: Teste de asimilare; Teste enzimatic; Teste Morfologice.

În urma determinărilor/testelor de laborator a fost identificată specia Candida albicans la pacienta în cauză.

Există dovezi clare care arată o relație directă între consumul de antibiotice și rezistența dezvoltată de agenții microbieni (Chirila S, Alexiu SA, 2018). A fost propusă normalizarea pH-ului pacientei, administrarea de vitamine etc. După o perioadă de 14 zile, pacienta MC a revenit la laborator, unde am constatat vindecarea completă în urma analizelor de laborator.

Concluzii

Prevenirea apariției candidozelor se poate realiza prin:

- tehnici de alcalinizare a suprafețelor tegumentare și mucoase (de exemplu cu soluții ce conțin bicarbonat de sodiu);
- menținerea echilibrului ecologic cu alte microorganisme, prin folosirea de eubiotice și complexe de vitamine;
- asigurarea statusului imunologic corespunzător din punct de vedere funcțional, prin asigurarea orelor de odihnă fizică și psihică, și un aport alimentar echilibrat al principiilor nutritive și vitamine esențiale;
- evitarea exceselor de antibioterapie generală.

În urma determinarilor de laborator s-a propus pacientei normalizarea pH-ului vaginal/ alcalinizarea mucoasei vaginale, respectiv spălături frecvente cu soluții de bicarbonat de sodiu 2%, administrarea de vitamine esențiale, precum și evitarea folosirii antibioticelor pe toată durata tratamentului.

5.9. Analiză statistică comparativă preliminară a două loturi de pacienți cu micoze: candidoze, respectiv alte micoze

(MOROIANU O.N., POPESCU D.N., PETCU L.C., GURGAȘ L., ROȘOIU N., 2019)

Studiul își propune a pune în evidență diferențele principalilor parametri statistici dintre două loturi de pacienți diagnosticați cu micoze, urmărindu-se totodată frecvența asocierii cu diferite alte afecțiuni.

Au fost selectate un număr de 65 foi de observație a unor pacienți diagnosticați cu diferite forme de „candidoză” și un număr de 40 foi de observație a unor pacienți diagnosticați cu diferite forme de „alte micoze”.

Principalele date pașaportale au fost introduse într-un program statistic SPSS 23 obținându-se grafice comparative referitoare la condiții de viață (rural/urban), sex, vârstă, investigații biochimice și hematologice. Date importante au fost obținute și prin compararea asocierii cu alte diagnostice precizate în documentația medicală.

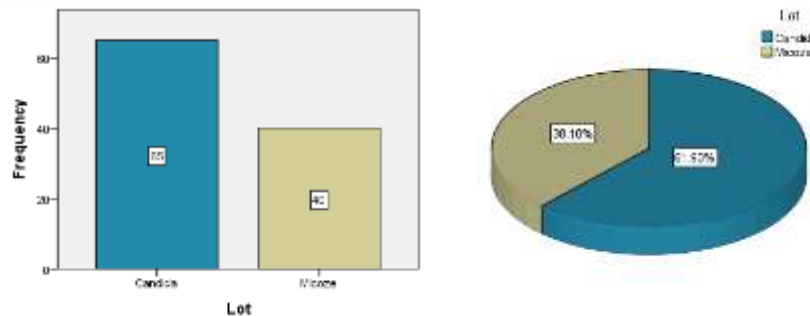


Figura 79 Reprezentare Coloană (stg.) și Pie (dr.) a repartiției pacienților pe loturi (Candida/Micoze)

În studiu au fost înrolați 105 pacienți din care 65 cu Candida (61.9%) și 40 cu Micoze (38.1%). Din punct de vedere statistic putem spune că cele două loturi NU sunt echilibrate numeric, adică, cele două categorii NU apar cu egală probabilitate ($p = 0.015 < \alpha = 0.05$ - One sample CHI-Square Test).

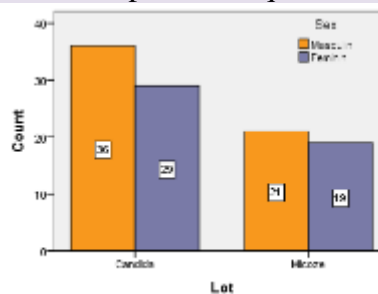


Figura 80 Reprezentare Coloană a repartiției pacienților din loturile Candida/Micoze în funcție de sex

Referitor la repartiția pacienților din loturile Candida/Micoză în funcție de sex observăm că, din totalul de 105 pacienți 57 (54.3.6%) sunt *barbați* din care 36 (34.3%) au candida, iar 21 (20%) prezintă micoze, iar 48 (45.7%) sunt *femei*, din care 29 (27.6%) au candida și 19 (18.1%) prezintă micoze.

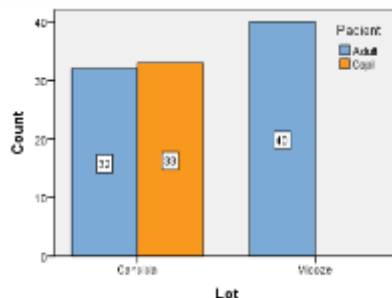


Figura 82 Reprezentare - Coloană a repartiției pacienților din loturile Candida/Micoze în funcție de pacient (adult/copil)

În grupul pacienților cu Micoze au fost înrolați numai *adulți* cu vârste cuprinse între 24 și 87 ani cu o medie de vârstă de 64.36 de ani și o deviație standard de 12.83 ani.

În grupul pacienților cu Candida au fost înrolați atât *adulți* cât și *copii*. Adulții au avut vârste cuprinse între 24 și 92 de ani cu o medie de vârstă de 58.84 și o deviație standard de 19.12 ani. Copii au avut vârste cuprinse între 0 și 9 ani cu o medie de vârstă de 2.18 și o deviație standard de 2.16 ani. Între valorile medii de concentrație medie de hemoglobină/eritrocit (CHEM) corespunzătoare celor două grupuri candida/micoze ($M_{\text{candida}} = 34.04$ [g/dL] și $M_{\text{micoze}} = 33.05$ [g/dL]) se constată că *Există diferențe semnificative statistic*: $t = 2.868$; $df = 103$; $M_{\text{diff}} = 0.990$ [g/dL]; $p = 0.005 < \alpha = 0.05$; Intervalul de confidență 95% al diferenței dintre valorile medii = (0.305, 1.675) [g/dL]. Între valorile medii de ALT corespunzătoare celor două grupuri candida/ micoze ($M_{\text{candida}} = 18.78$ [U/L] și $M_{\text{micoze}} = 18.62$ [U/L]) se constată că *NU Există diferențe semnificative statistic*: $t = 0.074$; $df = 103$; $M_{\text{diff}} = 0.156$ [U/L]; $p = 0.942 > \alpha = 0.05$; Intervalul de confidență 95% al diferenței dintre valorile medii = (-4.054, 4.366) [U/L].

Între valorile medii de AST corespunzătoare celor două grupuri candida/micoze ($M_{\text{candida}} = 28.70$ [U/L] și $M_{\text{micoze}} = 22.52$ [U/L]) se constată că *Există diferențe semnificative statistic*: $t = 2.539$; $df = 103$; $M_{\text{diff}} = 6.173$ [U/L]; $p = 0.013 < \alpha = 0.05$; Intervalul de confidență 95% al diferenței dintre valorile medii = (1.351, 10.995) [U/L].

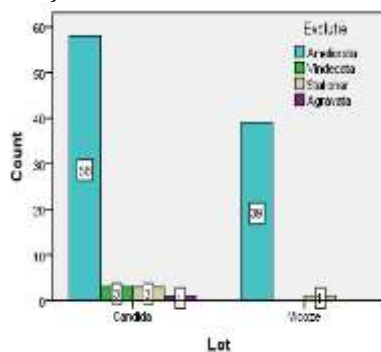


Figura 101 Reprezentare Coloana repartitiei pacientilor din loturile Candida/Micoze în funcție de evoluție

Tabelul V.3. Testul chi-pătrat pentru compararea a două proporții (din probe independente) exprimate ca procent.

Candida (n = 65)		Micoze (n = 40)		Chi-	p	Diferente
ni	%	ni	%			

					squared		
Ameliorat	58	89.23	39	97.50	1.374	0.2410	Nu
Vindecăt	3	4.62	0	0.00	0.603	0.4375	Nu
Stationar	3	4.62	1	2.50	0.0006	0.9791	Nu
Agravat	1	1.54	0	0.00	0.0602	0.8061	Nu

CONCLUZII

La ambele loturi se observă prevalența sexului masculin (34,3%, respectiv 21%; față de 27,6%, respectiv 18,1% la sexul feminin).

La ambele loturi se observă prevalența provenienței din mediul urban (52,4%, respectiv 27,6%; față de 9,5%, respectiv 10,5% din mediul rural).

În privința vârstei, la lotul de „candidoze”, majoritari au fost copiii (33% față de adulți 32%), iar la lotul de „alte micoze”, nu a fost înregistrat niciun copil.

În ceea ce privește investigațiile biochimice și hematologice remarc diferențe semnificative ale valorilor medii între cele două loturi, astfel : la lotul „candidoze” sunt mai mari valorile medii ale limfocitelor ($17,64$ față de $11,92 \cdot 10^3/\text{uL}$), trombocitelor ($310,03$ față de $247,07 \cdot 10^3/\text{uL}$), AST ($28,70$ față de $22,53 \text{ U/I}$); la lotul „alte micoze” sunt mai mari valorile medii ale eozinofilelor (1282 față de $675 \cdot 10^3/\text{uL}$), glucozei serice ($104,95$ față de $95,64 \text{ mg/dl}$), neutrofilelor ($35,75$ față de $29,90 \cdot 10^3/\text{uL}$), ureei ($40,24$ față de $29,97 \text{ mg/dl}$). Comparând între ele aceste valori, se poate concluziona că modificările constantelor biologice în cazul altor micoze sunt mai importante, mai grave, decât cele înregistrate la candidoze. Referitor la asocierea cu alte afecțiuni, se observă clar că lotul de pacienți diagnosticați cu „alte micoze” asociază mai mult afecțiuni care pot avea legătură directă sau indirectă cu acele micoze decât lotul cu „candidoze”, astfel: insuficiența venoasă (40% față de 1,5 %), hipertensiunea arterială (37% față de 13,8%), diabet tip 2 (17,5% față de 7,7%), cardiopatia ischemică cronică (12,5% față de 6,2%), obezitatea (17,5% față de 3,1%). În schimb, se remarcă creșterea asocierii cazurilor de pneumonie la lotul cu „candidoze” (18,5%), față de lotul „alte micoze”(2,5%). Această ultimă observație poate fi explicată ca o consecință a efectului antimicrobian al antibioticelor asupra florei microbiene saprofite, protectoare față de dezvoltarea candida albicans.

Asocierea altor micoze cu afecțiunile exemplificate mai sus, poate fi explicată prin modificarea răspunsului imun la diferite agresiuni ce acționează asupra organismului uman odată cu înaintarea în vârstă.

Concluzii generale

Din experimentele efectuate și datele obținute putem formula următoarele aprecieri, comentarii și concluzii.

Experimentul nr. I

În urma acestor determinări, am constatat că la bicarbonatul de sodiu, alcool etilic și clorura de sodiu nu s-a evidențiat efectul inhibitor așteptat asupra culturilor de Candida albicans. Doar la acidul acetic a fost semnalat efectul inhibitor (la concentrația de 33, 43%, aproximativ 33, 4%). Aplicarea de acid acetic diluat, în concentrație de 33, 43%, determină distrugerea coloniilor de Candida Albicans atât în vitro, cât și în vivo. *Studiul poate fi extins asupra multor altor substanțe, inclusiv asupra unor extracte din plante.*

Experimentul nr. II

Prin cele două experimente (cu Candida, respectiv Aspergillus) din cadrul studiului, se evidentiază faptul că în terapia micozelor cutanate și mucoase poate fi recomandată aplicarea locală a produselor extrase din plante, comercializate sub formă de uleiuri sau tincturi. Produsele recomandate sunt: *tincturile de gălbenele și propolis; uleiurile de salvie și mentă*. Concentrația recomandată este de 20%, în aplicații zilnice, până la completa vindecare.

Experimentul nr. III

La finalul studiului am remarcat o acțiune inhibitorie asupra culturilor de Candida albicans, determinată de uleiurile esențiale: de oregano, cimbru, geranium, de bitterul din 50 de plante, de ganoderma, picături suedeze, soluție superconcentrată de Ag și soluția cu ioni de Ag și Au.

În cazul uleiurilor de mentă, eucalipt, salvie, lavandă, tincturii de propolis, oțetului de mere și soluției de otet de vin 9% (cu diluție de 1/8), efectul antifungic a fost pentru o perioadă de timp scurtă, coloniile regenerându-se; astfel, ar fi recomandabil ca tratamentul cu aceste substanțe să fie repetat la anumite intervale de timp, pentru combaterea cu succes a Candidiei albicans.

Rezultate favorabile în inhibarea sau liza culturilor de Candida albicans au fost obținute în urma experimentelor de 48 h și, respectiv, 72 de h după aplicarea: uleiului esențial de oregano, uleiului esențial de geranium, uleiului esențial de cimbru, bitterului din 50 de plante și cu ganoderma, picăturilor suedeze, soluției coloidale superconcentrată cu Ag, soluției coloidale cu ioni de Ag și Au. Se pot folosi în mod repetat produsele utilizate în studiu cu scopul obținerii unei vindecări de durată.

Experimentul nr. IV

Pentru uleiuri am utilizat 200 μl substanță (uleiul respectiv)/800 μl ser fiziologic, la care am adăugat câteva colonii (2, 3) de Candida spp. Pentru oțetul de mere, în primele 24 h apare sensibilizare a coloniilor de Candida, comparativ cu cidrul de mere, soluția de sare iodată și acidul citric. După 24 h se observă o oarecare sensibilizare a coloniilor de Candida la oțetul de mere, până la 96 de h de evaluare, însă nu total; Candida albicans re apare. Cele 2 soluții de bicarbonat de sodiu pe care le-am folosit în studiu s-au dovedit inactice în tratarea Candidiei pe parcursul celor 4 zile de experiment. De asemenea, pentru cele 4 zile se observă o oarecare sensibilizare la probele III și IV ale acidului acetic 1M, dar nu suficientă pentru a combate candida. Rezultatele experimentelor demonstrează faptul că pentru a trata micozele cutanate și ale mucoaselor, putem utiliza extracte din plante (tincturi sau uleiuri) ce pot fi aplicate local. Concentrația recomandată este de 20 %, în aplicații zilnice, până la o vindecare totală a leziunilor. De asemenea, uleiul de tămâie și cel de lămâie, determină sensibilizare a coloniilor de Candida în primele 24 de ore și, ulterior, într-o măsură mai mică după 48 de ore de la însămânțare, până la 96 de ore. Putem considera că uleiul de tămâie și cel de lămâie folosite în concentrații mai mari, ar da un rezultat antifungic bun sau, eventual, prin amestecarea lor cu alte substanțe fungicide. *Uleiul de lămâie și uleiul de tămâie pot fi folosite în mod repetat/ alternativ cu alte substanțe antifungice*. Candida albicans prezintă sensibilizare pentru oțetul de mere, în special pentru primele 48 ore, și într-o măsură ceva mai mică ulterior. Acesta ar putea fi folosit mai des în alimentație, cu scop de profilactic. *Tinctura de iod 2% și uleiul de ghimbir și-au demonstrat rolul antifungic în tratamentul candidiei pe parcursul celor 4 zile de studiu.*

Experimentul nr. V

Pentru studiul de 120 de h cu substanțe folosite în vederea combaterii candidiei se poate observa că numai uleiul de oregano și-a menținut capacitatea de inhibare, comparativ cu celelalte uleiuri: de musk alb, scortişoară, geranium, cânepă, opium, cimbru de cultură (*Thymus vulgaris*) și santal în concentrație de 20 %, precum și tinctură de lemn dulce (rădăcini de *Glycyrrhiza glabra*), respectiv soluție coloidală de cupru.

Se poate face observația că acțiunea uleiului esențial din cimbru de cultură este mai puțin eficientă decât cea a uleiului esențial de cimbru, folosit într-un alt experiment. Astfel, uleiul esențial de cimbru de cultură nu poate stopa dezvoltarea candidiei nici în primele 24 de h, comparativ cu uleiul esențial de cimbru, care a fost eficace pe parcursul celor 3 zile analizate în studiul anterior. De asemenea, se observă în cazul uleiului de scortişoară, chiar și a uleiului de geranium și a soluției de cupru coloidal, faptul că pe parcursul celor 120 de h, candida s-a menținut la același nivel, ceea ce demonstrează că uleiurile de scortişoară și geranium, precum și soluția de cupru coloidal, folosite în concentrații mai mari, ar putea inhiba cu succes dezvoltarea candidiei.

Experimentul nr. VI

Substanțele utilizate în studiu (uleiurile esențiale) au fost aplicate în concentrații mai mare, de 30%. În cele 5 zile de experiment am constatat faptul că tincturile de coada calului (de la Dacia Plant) și coada șoricelului (produsă de Hofigal) spre deosebire de tincturile de: rostopască și brusture (de la Dacia Plant) au inhibat dezvoltarea Candidiei Albicans din prima zi până în ultima zi de experiment. BIOMICIN FORTE A15, produs de Fares (sub formă de capsule și format din uleiuri de floarea soarelui, ulei esențial de cimbru – *Thymi aetheroleum*, ulei esențial de cuișoare – *Caryophylli floris aetheroleum*) nu are acțiune antifungică în tratarea candidiei pentru cele 120 de h de evaluare. De asemenea, pe plăcile colorate cu violet de gențiană și produsele care inhibă dezvoltarea candidiei (tincturile de: coada calului (de la Dacia Plant) și coada șoricelului (produsă de Hofigal), precum și capsulele de turmeric & piper 250, s-a putut observa la microscopul optic micșorarea numărului de micelii de candida.

În concluzie, pentru cele 5 zile de experiment, s-au remarcat 3 substanțe: tinctura de coada calului (de la Dacia Plant), tinctura de coada șoricelului (produsă de Hofigal Plant), precum și capsulele de turmeric 250 & piper; acestea pot fi utilizate cu succes în stoparea dezvoltării Candidiei albicans și într-o mai mică măsură sau, eventual, în mod repetat pentru un efect de durată, se poate apela și la tinctura de ardei iute (de la Faunus Plant) fie separat, fie în combinație cu alte substanțe naturiste cunoscute ca antifungice.

Experimentul nr. VII

Uleiul esențial de oregano poate fi folosit cu succes ca antifungic pentru afecțiunile determinate de *Candida Albicans*; acest antifungic acționează prin disocierea dintre peretele celular și membrana candidiei, datorită acțiunii synergice a timolului și, respectiv, carvacrolului, din compoziția uleiului esențial de oregano și are efect remanent, în același timp ireversibil, în combaterea candidiei.

Experimentul nr. VIII

În scopul prevenirii apariției candidozelor se poate interveni prin:
- tehnici de alcalinizare a suprafețelor tegumentare și mucoase (de exemplu cu soluții ce conțin bicarbonat de sodiu);

- menținerea echilibrului ecologic cu alte microorganisme, prin folosirea de eubiotice și complexe de vitamine;
- odihnă fizică și psihică;
- evitarea oricăror excese de antibioterapie generală.

În urma determinărilor de laborator s-a propus pacientei aflate în studiu normalizarea pH-ului vaginal/ alcalinizarea mucoasei vaginale (respectiv spălături frecvente cu soluții de bicarbonat de sodiu 2%), administrarea de vitamine esențiale, precum și evitarea folosirii antibioticelor pe toată durata tratamentului.

După revenirea la laborator la aproximativ 14 zile , am constatat vindecarea completă a pacientei M.C. în urma analizelor de laborator.

Experimentul nr. IX

La ambele loturi se observă prevalența sexului masculin (34,3%, respectiv 21%; față de 27,6%, respectiv 18,1% la sexul feminin). La ambele loturi se observă prevalența provenienței din mediul urban (52,4%, respectiv 27,6%; față de 9,5%, respectiv 10,5% din mediul rural). În privința vârstei, la lotul de „candidoze”, majoritari au fost copiii (33% față de adulți 32%), iar la lotul de „alte micoze”, nu a fost înregistrat nici un copil.

În ceea ce privește investigațiile biochimice și hematologice am remarcat diferențe semnificative ale valorilor medii între cele două loturi, astfel: la lotul „candidoze” sunt mai mari valorile medii ale limfocitelor ($17,64$ față de $11,92 \cdot 10^3/\mu\text{L}$), trombocitelor ($310,03$ față de $247,07 \cdot 10^3/\mu\text{L}$), AST ($28,70$ față de $22,53$ U/I); la lotul „alte micoze” sunt mai mari valorile medii ale eozinofilelor (1282 față de $675 \cdot 10^3/\mu\text{L}$), glucozei serice ($104,95$ față de $95,64$ mg/dl), neutrofilelor ($35,75$ față de $29,90 \cdot 10^3/\mu\text{L}$), ureei ($40,24$ față de $29,97$ mg/dl). *Prin compararea acestor valori, se poate concluziona că modificările constantelor biologice în cazul altor micoze sunt mai importante, mai grave, decât cele înregistrate la candidoze.* Referitor la asocierea cu alte afecțiuni, se observă clar că lotul de pacienți diagnosticați cu „alte micoze” asociază mai mult afecțiuni care pot avea legătură directă sau indirectă cu acele micoze decât lotul cu „candidoze”; acestea sunt: insuficiența venoasă (40% față de 1,5 %), hipertensiunea arterială (37% față de 13,8%), diabet tip 2 (17,5% față de 7,7%), cardiopatia ischemică cronică (12,5% față de 6,2%), obezitatea (17,5% față de 3,1%). Am remarcat creșterea asocierii cazurilor de pneumonie la lotul cu „candidoze” (18,5%), față de lotul „alte micoze” (2,5%). Această ultimă observație poate fi explicată ca o consecință a efectului antimicrobian al antibioticelor asupra florei microbiene saprofite, protectoare față de dezvoltarea *Candida albicans*. Asocierea altor micoze cu afecțiunile exemplificate mai sus, poate fi explicată prin modificarea răspunsului imun la diferite agresiuni ce acționează asupra organismului uman odată cu înaintarea în vârstă. *În urma studiilor de cercetare am descoperit numeroase substanțe naturiste și nu numai, capabile să combată boli considerate câteodată dificil de vindecat (*Candida albicans*, *Aspergiloza*). Cu siguranță există nenumărate posibilități de a utiliza substanțele naturiste fie separat, fie în anumite combinații pentru un efect antifungic rapid. Concentrația substanțelor este un factor important în aceste cazuri; am observant că la concentrații mai mari ale unor produse (20%, 30%) fie uleiuri esențiale, fie alte produse terapeutice sau substanțe existente pe piață obținem un randament foarte bun în vindecarea micozelor. Astfel, am descoperit nenumărate produse (uleiuri, tincturi, produse terapeutice etc) capabile să ajute în aceste situații mai puțin plăcute. În micoze diferite substanțele acționează diferențiat; studiul se poate extinde cu mai multe substanțe naturiste. De asemenea, studiul poate fi*

continuat comparativ cu alte culturi de micelii. Este foarte important să ne menținem organismul sănătos pentru că în anumite situații, când organismul este slăbit, se pot instala cu ușurință tot felul infecții fungice. Rezultatele studiilor evaluate pot fi aplicate ca o alternativă în combaterea micozelor, realizată de tratamentul medicamentos uzual.

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

1. Abdulgaffar O., Abbas H., Karim M., Samira E., Antifungal effects of Thyme, Agastache and Satureja essential oils on *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus flavus* and *Fusarium solani*, Veterinary Research Forum, September 2010, vol.1, no.2, pp.99-105
2. Afsharipour M, Mahmoudi S, Raji H et al, Three –year evaluation of nosocomial infections in pediatrics: bacterial and fungal profile and antimicrobial resistance pattern, *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 21,6, 2022, 1-15
3. Alexandru Mihaela, Marcean Crin, Mihăilescu Vladimir Manta, Microbiology, Virology, Parasitology - Manual for post-secondary health schools, Bucharest Medical Publishing House, 2020, 15-276
4. ALVAREZ-MORENO, C.A., CORTES, J.A. și DENNING, D.W., 2018. Povara infecțiilor fungice în Columbia. *Journal of Fungi*, voi.4, nr. 2, p. 41. <http://dx.doi.org/10.3390/jof4020041>. PMID:29561795
5. Andrade R., Gumport SL., Popkin GL., Rees TD (sub red). "Cancer Of The Skin." WB Saunders, 1985
6. Anthony Y. (2007). Structure of normal skin | DermNet New Zealand. Retrieved January 31, 2017, from <http://www.dermnetnz.org/topics/the-structure-of-normal-skin/#mk>
7. Apetrei Ingrid Cezara, Bazgan Olimpia, Petru Cazacu, et al., Laboratory techniques in medical mycology, Iasi-2007; 165
8. Arda O., Göksügür N., & Tüzün Y. (2014). Basic histological structure and functions of facial skin. *Clin Dermatol*, 32(1):3-13. <http://doi.org/0.1016/j.clindermatol.2013.05.021>
9. Betty A.Forbes, Daniel F.Sahm, Alice S.Weissfeld. Mycology. In Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology. Mosby, USA, 12 ed. 2007, 50: 629-716
10. Bik L, van Doorn MBA, Biskup E, Ortner VK, Haedersdal M, Olesen UH., **Electronic** Pneumatic Injection-Assisted Dermal Drug Delivery Visualized by Ex Vivo Confocal **Microscopy**. *Lasers Surg Med*. 2021 Jan;53(1):141-147. doi: 10.1002/lsm.23279. Epub 2020 Jun 8. PMID: 32515075
11. Guarda A., Rubilar J.F., Miltz J., Galatto M.J, The antimicrobial activity of microencapsulated thymol and carvacrol, *International Journal of Food Microbiology*, March 2011, vol.146, no.2., pp.144-150.
12. Moroianu Olimpia-Nicoleta, Popescu Nelu-Doru, Urse Alina Raluca, Rosoiu Natalia, Study on the Action of Natural Products on *Candida Albicans* Crops. *International Journal of Biomedical Engineering and Clinical Science*. Vol. 8, No. 3, 2022, pp. 27-32. doi: 10.11648/j.ijbecs.20220803.11.
13. Moroianu Olimpia-Nicoleta, Popescu Nelu-Doru, Urse Alina, Gurguş Leonard& Rosoiu Natalia, Study of the action of some chemical and natural substances on *Candida albicans* cultures. *Norwegian Journal of Development of the International Science*, No 91, 2022, 34-39.<https://doi.org/10.5281/zenodo.7032255>.

14. Moroianu O-N, Popescu N-D, Roşoiu N, Experimental Study on Inhibitor Effects of Substances Applied in Differential Dilutionson Albicans Candidate Cultures, Academy of Romanian Scientists, Annals Series on Biological Sciences, 2018, 7, 2, 61-69
15. Nostro A, Papalia T., Antimicrobial Activity of carvacrol: current progress and future prospective, April 2012, vol.7, no.1, pp.28-35 (8).
16. Vandeputte P., Ferrari S. and Coste A.T., Antifungal rezistance and new strategies to control fungal infections, International Journal of Microbiology, 2012, vol. 2012, Article ID 713687, pp. 1-26, DOI:10.1155/2012/713687.

Lucrări științifice publicate în cursul stagiului de doctorat

1. Gurgas L., Popescu N.D., Hangan L.T., Chirila S., **Moroianu O.**, Rosoiu N. Study on electron microscopy images of a basocellular epitelioma, în **Ars Medica Tomitana**, 2018 EBSCO Academic Search & One Belt, One Road Reference Source. 2272(24): 90 - 95. **Revista B+ indexată BDI**, in Baidu Scholar, CABI (over 50 subsections), Case, Chemical Abstracts Service (CAS) – Caplus, Chemical Abstracts Service (CAS) – SciFinder, CNKI Scholar (China National Knowledge Infrastructure), CNPIEC, DOAJ (Directory of Open Access Journals), EBSCO (relevant databases), EBSCO Discovery Service, Elsevier – Embase, Elsevier – Reaxys, Elsevier - Text Mining, Genamics JournalSeek, Google Scholar, Index Copernicus, Japan Science and Technology Agency (JST), J-Gate, JournalTOCs, KESLI-NDSL (Korean National Discovery for Science Leaders), Meta (formerly Scisearch), Microsoft Academic, Naviga (Softweco), Primo Central (ExLibris), Publons, PubsHub, ReadCube, Sherpa/RoMEO, Summon (Serials Solutions/ProQuest), TDNet, Ulrich's Periodicals Directory/ulrichsweb, WanFang Data, WorldCat (OCLC), <http://www.arsmedtom.ro>.
2. **MOROIANU O-N.** , **POPESCU N.- D.** , **ROȘOIU N.**, Experimental Study on Inhibitor Effects of Substances Applied in Differential Dilutions on Albicans Candied Culture, **Academy of Romanian Scientists, Annals Series on Biological Sciences**, 7,2, 61-69, (2018), Open access Journal, www.aos.ro, **Revista B+, indexată BDI**
3. **MOROIANU O.N.**, **POPESCU D.N.**, **PETCU L.C.**, **GURGAS L.**, **ROȘOIU N.**, Preliminary comparative study on patiens with mycoses – a comparison between candida and other fungal infections, **ARS Medica Tomitana**, 2(25), 78-81, (2019), **B⁺BDI**, Revista indexată in EMBASE, DOAJ, Index Copernicus, etc., <https://content.sciendo.com/arsm>
4. **MOROIANU O-N.** , **POPESCU N.-D.** , **ROȘOIU N.**, Comparative Study in the Treatment of *Candida* and *Aspergillus* with Natural Substances, **Academy of Romanian Scientists, Annals Series on Biological Sciences**, 9,1, 37-44, (2020), Open access Journal, www.aos.ro, **Revista B+, indexată BDI**
5. **Olimpia-Nicoleta Moroianu**, Nelu-Doru Popescu, Alina Raluca Ursu, Natalia Rosoiu. Study on the Action of Natural Products on Candida Albicans Crops. **International Journal of Biomedical Engineering and Clinical Science**. Vol. 8, No. 3, 2022, pp. 27-32. doi: 10.11648/j.ijbecs.20220803.11; ISSN: 2472-1298 (Print); ISSN: 2472-1301 (Online)
6. **Moroianu Olimpia-Nicoleta**, Popescu Nelu-Doru, Urse Alina, Gurgas Leonard & Rosoiu Natalia, Study of the action of some chemical and natural substances on Candida

albicans cultures. Norwegian Journal of Development of the International Science, No 91, 2022, 34-39.<https://doi.org/10.5281/zenodo.7032255>

7. **Moroianu O.**, Popescu N., Stefanov C., Dobrin N., Rosoiu N., **CHANGES REVEALED BY TRANSMISSION ELECTRON MICROSCOPY (TEM) IN CANDIDA ALBICANS CULTURES INOCULATED WITH OIL OF OREGANO**, Norwegian Journal of development of the International Science

ISSN 3453-9875, No 92/2022, p. 20-25; <https://doi.org/10.5281/zenodo.707921>

8. **Olimpia-Nicoleta Moroianu**, Nelu Doru Popescu, Alina Raluca Ursu, Tony Laurentiu Hangan, Natalia Rosoiu, Study On the Action of 9 Natural products and colloidal copper solution on Candida albicans Cultures. Annali d'Italia, Scientific Journal of Italy, VOL. 1 ISSN 3572-2436, No 35, 2002, Via Carlo Pisacane, 10, Florence, Italy, 6-11. <https://doi.org/10.5281/zenodo.7107664>

Lucrări prezentate la manifestări științifice naționale și internaționale și publicate sub formă de rezumat

1. **MOROIANU O-L., ROSOIU N.**, Mucocutaneous mycosis (dermatomycosis), Academia Oamenilor de Știință din România, Sesiunea Științifică de Toamnă, 22-24 septembrie Durau , Neamt, p 70, (2016). www.aos.ro

2. **MOROIANU O-N., ROSOIU N.**, Cutaneous mucous candidiasis, Academia Oamenilor de Știință din România, Conferința Științifică de Toamnă, octombrie Timisoara, 60-61, (2017). www.aos.ro

3. **MOROIANU O-N. , ROSOIU N., GURGAS L.**, Study of the inhibitory effect of some substances applied in various dilutions on *Candida albicans* cultures, Academia Oamenilor de Știință din România, Conferința Științifică de Toamnă, Septembrie, Targoviste, 52-53, (2018). www.aos.ro

4. **MOROIANU O.N., ROSOIU N., GURGAS L.**, Treating *Candida Albicans* with Naturally Occuring Substances, Academia Oamenilor de Știință din România, Conferința Științifică de Primăvară, Aprilie, București (2019). www.aos.ro

5. **MOROIANU O.N., ROSOIU N. , Dr. Nelu –Doru POPESCU,** *How Can We Treat Aspergillus?*, Academia Oamenilor de Știință din România, Conferința Științifică de Primăvară, Aprilie, București (2019). www.aos.ro

6. **MOROIANU O.N., PETCU L.C., POPESCU N.D., ROSOIU N.**, Statistical Comparative Study of Patients with Candidiasis, Respectively a Lot of Patients with Other Mycoses, Academia Oamenilor de Știință din România, Conferința Științifică de Primăvară, 21-22, (2020). www.aos.ro

7. **MOROIANU O.N., ROSOIU N., GURGAS L.**, Nelu Doru Popescu, Alina Raluca Urse, *Study of the Action of Chemical Compounds on Candida Albicans Colonies*, Academia Oamenilor de Știință din România, Conferința Științifică de Primăvară, (2022). www.aos.ro

Participări la congrese științifice naționale și internaționale

1. **MOROIANU O-L., ROSOIU N.**, Mucocutaneous mycosis (dermatomycosis), Academia Oamenilor de Știință din România, Sesiunea Științifică de Toamnă, 22-24 septembrie Durau , Neamt, (2016)- ppt

2. **MOROIANU O-N. , ROSOIU N., GURGAS L.**, Conferința Științifică de Toamnă, Septembrie, Targoviste (2018)

3. 27 iunie 2019 – Conferința de diseminare a proiectului Erasmus+ ”- “Tehnicienii formați în standarde europene pentru construcțiile mileniului III”- la Liceul Tehnologic “Tomis” Constanța (adeverință)

4. 3.06.2022 – Manifestarea științifică “ Omul. Mediul. Poluarea ” la Universitatea “Ovidius” Constanța în cadrul Societății de chimie din România aflată la a 9-a ediție, unde am primit diplome de participare atât eu, cât și elevii de la Colegiul Comercial “Carol” Constanța de la clasa a 9-a B pentru deosebită contribuție (am participat cu un power point împreună cu 2 elevi); menționez faptul că sunt membru al Societății de Chimie din România.