

**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. CS I Roșoiu Natalia

Membru Titular al Academiei Oamenilor de Știință din România

Doctorand:

Moroianu D. Olimpia-Nicoleta

**CONSTANȚA
-2024-**

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 echipei de cercetători din cadrul laboratoarelor de microscopie electronică ale Universității „Ovidius” Constanța: prof. univ. dr. Victor Ciupină, prof. univ. dr. Constanța Ștefanov și prof. univ. dr. Nicolae Dobrin.

Mulțumesc domnului dr. Lucian Cristian Petcu pentru sprijinul informatic și consultativ oferit în elaborarea datelor legate de procedurile histologice care 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. Apostol Andrei” din Constanța pentru sprijinul acordat în derularea experimentelor și furnizarea/obținerea datelor necesare.

Mulțumesc colectivului de specialiști de la „Centrul Medical Iowemed – Medicover” 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.....	11
PARTEA I. STADIUL CUNOAȘTERII.....	12
CAPITOLUL 1. EMBRIOLOGIA, ANATOMIA, HISTOLOGIA ȘI FUNCȚIILE PIELII.....	12
1.1 Embriologia organului cutanat.....	12
1.2 Anatomia pielii.....	13
1.3 Histologia pielii.....	14
1.3.1 Epidermul.....	14
1.3.2 Joncțiunea dermo-epidermică.....	17
1.3.3 Dermul.....	18
1.3.4 Hipodermul.....	19
1.4 Vascularizația pielii.....	20
1.5 Inervația pielii.....	20
1.6 Anexele pielii.....	22
1.6.1 Glandele sudoripare.....	22
1.6.2 Glandele sebacee.....	23
1.6.3 Glandele mamare.....	23
1.6.4 Firul de păr.....	23
1.6.5 Unghiile.....	24
1.7 Funcțiile pielii.....	24
1.7.1 Keratinogeneza.....	24
1.7.2 Melanogeneza.....	25
1.7.3 Formarea filmului hidrolipidic.....	25
1.7.4 Funcția secretorie.....	25
1.7.5 Pilogeneza.....	26
1.7.6 Funcția de termoreglare.....	26
1.7.7 Funcția neuroexteroceptoare.....	27
1.7.8 Funcția neurovasomotorie.....	28
1.7.9 Funcția metabolică.....	28
1.7.10 Funcția de rezistență, elasticitate și plasticitate.....	29
1.7.11 Funcția endocrină.....	29
1.7.12 Funcția psihosocială.....	29
1.7.13 Funcția imunologică.....	29
1.7.13.1 Sistemul imun înăscut.....	31
1.7.13.2 Imunitatea adaptativă.....	31
CAPITOLUL 2. MICOZELE CUTANATE.....	35
2.1 Caracterizarea generală a speciilor de fungi implicate în micoze.....	35
2.2 Clasificarea micozelor.....	42
2.2.1 Micozele superficiale.....	42
2.2.2 Micozele profunde (sistemice).....	43
CAPITOLUL 3. DIAGNOSTICUL ȘI TRATAMENTUL MICOZELOR.....	45
3.1 Diagnosticul infecțiilor produse de dermatofiti și levuri.....	45
3.2. Tratamentul micozelor.....	63

3.2.1 Baze farmacologice.....	64
3.2.2 Principalele clase de substanțe antifungice.....	67
3.2.3. Microscopie electronica de transmisie (TEM).....	78
PARTEA II. CONTRIBUȚII PERSONALE	
INTRODUCERE	81
CAPITOLUL 4. MATERIAL ȘI METODE	82
4.1 Studiu epidemiologic.....	82
4.2 Evaluarea eficienței antifungice a unor extracte naturale și a unor compuși naturali/ de sinteză.....	82
CAPITOLUL 5. REZULTATE ȘI DISCUȚII	87
5.1 Studiu epidemiologic retrospectiv privind factorii de risc și variațiile parametrilor clinici și paraclinici la pacienții cu micoze, privind factorii favorizanți și determinanți ai infecțiilor fungice (Moroianu O.-N. , Popescu N.-D., Petcu L.C, Gurgaș L., Roșoiu N., 2019).....	88
5.2 Cercetări experimentale privind eficiența unor substanțe naturale și de sinteză asupra tulpinelor de levuri și fungi filamentoși implicate în micoze umane.....	108
5.2.1. Studiu experimental asupra efectului inhibitor al unor substanțe aplicate în variate diluții asupra culturilor de <i>Candida albicans</i> (Moroianu O.-N. , Popescu N.-D., Roșoiu N., 2019).....	108
5.2.2. Studiu comparativ al acțiunii unor substanțe naturiste asupra <i>Candidaei albicans</i> și <i>Aspergillus</i> (Olimpia-Nicoleta Moroianu , Nelu - Doru Popescu, Natalia Roșoiu, 2020)	114
5.2.3. Studiu privind acțiunea unor produse naturiste asupra culturilor de <i>Candida albicans</i> (Olimpia-Nicoleta Moroianu , Nelu-Doru Popescu, Alina Raluca Ursu, Natalia Roșoiu,2022).....	124
5.2.4 Studiu al acțiunii unor substanțe chimice și naturiste asupra culturilor de <i>Candida albicans</i> (Olimpia-Nicoleta Moroianu , Nelu Doru Popescu, Alina Raluca Ursu, Natalia Roșoiu, 2022).....	146
5.2.5 Studiu privind acțiunea a 9 produse naturiste și a soluției coloidale de Cu asupra culturilor de <i>Candida albicans</i> (Olimpia-Nicoleta Moroianu , Nelu Doru Popescu, Alina Raluca Ursu, Tony Laurențiu Hangan, Natalia Roșoiu, 2022)	169
5.2.6. Studiu cu 15 substanțe naturiste și soluție coloidală de platină asupra <i>Candidaei albicans</i> (O.-N. Moroianu , N.-D. Popescu, N. Roșoiu, 2022.....	184
5.2.7. Modificări evidențiate prin microscopia electronică de transmisie (TEM) în culturi de <i>Candida albicans</i> inoculate cu ulei de oregano (Olimpia-Nicoleta Moroianu , Nelu-Doru Popescu, Constanta Stefanov, Nicolae Dobrin, Natalia Rosoiu,2022).....	208
5.2.8. Studiu asupra factorilor interni și externi implicați în patogenia afecțiunilor determinate de levuri din genul și specia candida (Moroianu O.-N. , Popescu N.-D., Gurgaș L., Roșoiu N., Olgun A., 2023).....	216
Concluzii generale.....	227
Bibliografie selectivă.....	236
Lucrări științifice publicate în cursul stagiului de doctorat	255
Lucrări prezentate la manifestări științifice naționale și internaționale și publicate sub formă de rezumat.....	256
Participări la congrese științifice naționale și internaționale.....	257

OBIECTIVELE ȘI SCOPUL LUCRĂRII

Lucrarea își propune studiul etiopatogeniei candidozelor cutaneo-mucoase, precum și evaluarea unor noi strategii profilactice și terapeutice ale acestor afecțiuni.

În Partea I. Stadiul Cunoașterii, lucrarea de față vizează o actualizare și o sistematizare a informațiilor referitoare la etiopatogenia candidozelor cutaneo-mucoase.

În Partea a II-a. Contribuții Personale, lucrarea prezintă materialele, metodele și rezultatele obținute în cadrul a 9 studii, prin care această teză își aduce contribuția la dezvoltarea de noi strategii utile în profilaxia și terapia micozelor.

În unele cazuri am utilizat substanțe active (uleiuri, tincturi sau alte produse) în diferite concentrații (10%, 20%, 30% etc) pentru un efect favorabil.

În lucrare ne-am propus, de asemenea, formularea de observații asupra modificărilor culturilor de *Candida albicans* și *Aspergillus spp.*, ca urmare a intervenției secvențiale cu mai multe substanțe naturale și de sinteză în condiții de temperatură constantă și intervale de timp variate (24 h, 48 h, 72 h, 96 h și 120 h).

Principalele obiective ale lucrării au constat în:

1. Realizarea unui studiu retrospectiv care a vizat analiza și corelarea parametrilor clinici, paraclinici și epidemiologici la un eșantion semnificativ de pacienți diagnosticați cu micoze;
2. Evaluarea acțiunii fungicide sau fungistatice a unor substanțe naturale și de sinteză, ca potențiale noi, strategii utile în profilaxia și tratamentul candidozelor.

PARTEA II. CONTRIBUȚII PERSONALE INTRODUCERE

În general bolile de piele și în mod special, micozele, au un impact deosebit în privința stării de spirit oamenilor.

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 afecțiuni, iar altele au indicat boli colaterale în astfel de cazuri etc.

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

Am investigat biochimic și hematologic două loturi de cazuri: candida/micoze. Am realizat grafice comparative referitoare la condițiile de viață (rural/urban), sex, vârstă, într-un studiu comparativ între cele două loturi, referitor la pacienții internați în perioada specificată/analizată.

Am obținut imagini de microscopie optică și TEM, iar la final am tras concluziile specifice.

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 Clinic Județean de Urgență “Sf. Apostol Andrei” și Laboratorul de Microscopie Electronică al Facultății de Medicină din Constanța.

CAPITOLUL 4. MATERIALE ȘI METODE

Pentru realizarea tezei de doctorat am utilizat diverse materiale și metode de lucru, corespunzătoare studiilor diferite în cercetare.

4.1. Studiu epidemiologic

- 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.

4.2. Evaluarea eficienței antifungice a unor extracte naturale și a unor compuși naturali/ de sinteză

Un studiu a fost efectuat pentru a determina acțiunea unor substanțe extrase din plante asupra culturilor miceliene cu fungi, precum *Candida albicans* și *Aspergillus*.

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 *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%.

Un 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. La diferite intervale de timp am cercetat inhibarea dezvoltării candididei, prin utilizarea de uleiuri esențiale precum: arbore de ceai (*Malaleuca alternifolia*), oregano (*Origanum Vulgare*), chimen negru (*Bunium Persicum*), coriandru (*Coriandrum Sativum*) etc, a tincturii de gălbenele (*Calendulae Officinalis*) și a unei capsule de graviola (*Annona Muricata*), pe o perioadă de 48 de h; pentru 72 de ore am folosit uleiuri esențiale și anume: salvie (*Salvia Officinalis*), mentă (*Folium menthae/ Mentha piperita*), geranium (*Geranium Cinereum*), aloe (*Aloe Vera*), cimbru (*Satureja Hortensis*), tinctură de propolis, tinctură de pătlagină (*Plantago Major*), tinctură de mușetel (*Flores Chamomillae*), soluții coloidale (de ioni de Ag super concentrat, de ioni de Au și Ag), Apa Doamnei, Bitter (din 50 de plante cu *Ganoderma* - *Ganoderma Lucidum*-, respectiv picături suedeze), oțet de mere și oțet din vin de concentrație 9%.

Într-un 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 experiment:

- a. Cidru de mere, oțet de mere, sare iodată și acid citric.
- b. Două 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.

La 200 µl (substanță); am adăugat 800 µl ser fiziologic.

e. Ulei de ghimbir (*Zingiber officinale*), ulei de lămâie (*Citrus limon*), ulei de tămâie (*Thymanea*), ulei de neem (*Azadirachta indica*).

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).

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, 96 h. și respectiv, 120 h.

Pentru aceasta, am folosit mediul de cultură standard Sabouraud, pe care am înșămânțat 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

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), 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, sub acțiunea diferitelor produse avute în studiu.

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

Se realizează un frotiu, adică se așterne materialul biologic în strat foarte subțire pe o lamă de sticlă;

Se fixează la flacăra 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 flacăra, 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 bacterieni 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 evidențiat inhibarea dezvoltării candidiei pe o anumită perioadă.

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

Un caz particular a fost efectuat pe *Candida albicans*, recoltată de la o pacientă în vârstă de 26 de ani, care s-a prezentat la cabinetul medical cu o afecțiune în zona vaginală. În acest experiment am utilizat un sistem de identificare al candidiei denumit Candifast.

Pentru microscopia electronică cu transmisie (TEM) am prelevat 2 probe din mediul Sabouroud ATCC, înșămânțat cu eșantioane de *Candida albicans*; mediul a fost tratat inițial cu ulei esențial de oregano (*Origanum vulgare*); 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 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 15. 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 la „experimente”, în „Partea II. Contribuții personale” a tezei de doctorat.

CAPITOLUL 5. REZULTATE ȘI DISCUȚII

În prezenta lucrare, am studiat diferite aspecte ale etiopatogeniei, tratamentului și profilaxiei micozelor, cu un accent deosebit pe *Candida albicans*, prin realizarea unui studiu epidemiologic retrospectiv la pacienții internați cu micoze și evaluarea unor remedii alternative, naturiste și chimice, în combaterea micozelor, în principal a infecțiilor cu *Candida albicans*, având în vedere prevalența acestei levuri de la vârste fragede până la persoanele vârstnice, datorită imunității scăzute și factorilor interni și externi.

Studiul retrospectiv s-a realizat pe un lot de 105 pacienți diagnosticați cu diverse micoze (65 cu candidoză și 40 cu alte tipuri de micoze), internați în perioada mai 2017- februarie 2018 în Spitalul Clinic Județean de Urgență „Sfântul Apostol Andrei” din Constanța (secția dermatologie).

Datele demografice și clinice relevante au fost analizate statistic cu ajutorul programului statistic SPSS 23, permițând evaluarea corelațiilor diferiților factori precum mediul de viață (rural/urban), sexul, vârsta, parametrii biochimici și hematologici cu infecțiile micotice.

Am comparat acțiunea unor produse naturiste în diferite concentrații (10%, 20%, 30% și 40% etc.) asupra culturilor de *Candida albicans* și *Aspergillus sp.*

Observațiile s-au realizat utilizând diferite concentrații de substanțe active, în condiții de temperatură constantă și intervale de timp variate, respectiv 24 h, 48 h, 72 h, 96 h și 120 h.

Astfel, în lucrarea de față am evaluat efectul antimicotic al unor uleiuri esențiale precum: geranium (*Geranium robertianum*), arbore de ceai (*Melaleuca alternifolia*), oregano (*Origanum vulgare*), chimen negru (*Bunium persicum*), cuișoare (*Syzygium aromaticum*), coriandru (*Coriandrum Sativum*), ghimbir (*Zingiber officinale*), lămâie (*Citrus limon*), ulei de cătină albă de uz intern (*Hippophae rhamnoides*), ulei de muștar presat la rece etc, tincturi: de gălbenele (*Calendula officinalis*), de iod 2%, de coada șoricelului (*Achillea millefolium*), propolis, brusture (*Arctium lappa*), anghinare (*Cynara scolymus*), de lemn dulce sau răculeț, adică rădăcini de *Glycyrrhiza glabra* etc. și a unor capsule, ca de exemplu: graviola (*Annona muricata*) pe o perioadă 48 de h, turmeric & piper (*Curcuma longa* & *Piper nigrum*) pentru 120 h etc), soluții coloidale (de ioni de Ag superconcentrat, Au & Ag, Pt, Cu), precum și alte produse aflate în comerț (oțet de diverse tipuri și concentrații, bitter etc).

5.1. Studiu epidemiologic retrospectiv privind factorii de risc și variațiile parametrilor clinici și paraclinici la pacienții cu micoze, privind factorii favorizanți și determinanți ai infecțiilor fungice (Moroianu O-N., Popescu N-D., Petcu L.C, Gurgăș 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.

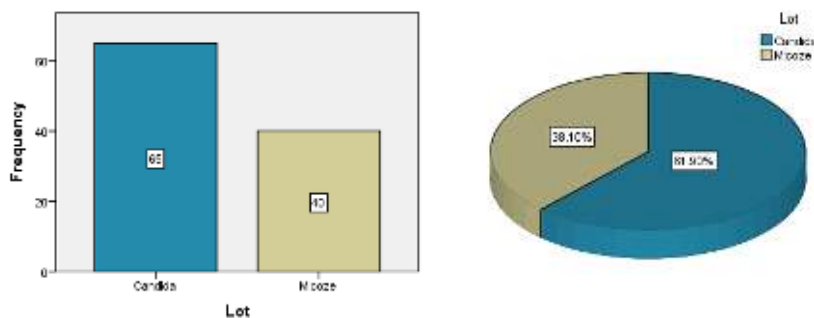


Figura 16. Reprezentare Coloană (stg.) și Pie (dr.) a repartiției pacienților pe loturi (Candida/Micoze)

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).

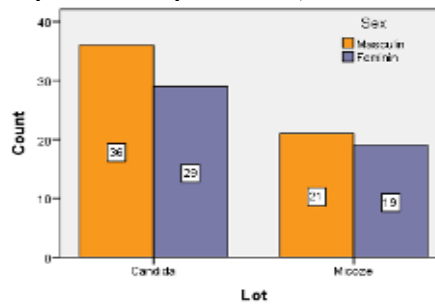


Figura 17. Reprezentare Coloană a repartiției pacienților din loturile Candida/Micoze în funcție de sex

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.

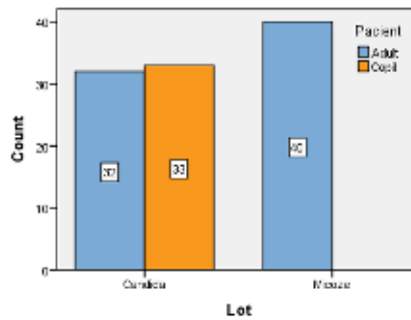


Figura 19. Reprezentare - Coloană a repartiției pacienților din loturile Candida/Micoze în funcție de vârstă (adult/copil)

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].

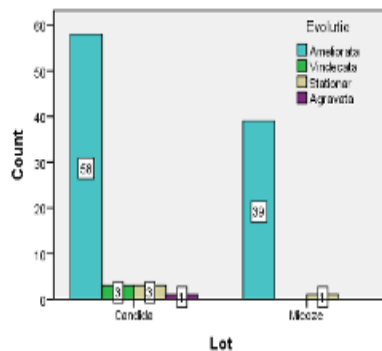


Figura 38. Reprezentarea Coloanei repartitiei pacientilor din loturile Candida/Micoze în funcție de evoluție

Tabelul 6. Distribuția pacienților din loturile Candida/Micoze în funcție de evoluție

	Candida (n = 65)		Micoze (n = 40)		Chi-squared	p	Diferente
	ni	%	ni	%			
Ameliorat	58	89.23	39	97.50	1.374	0.2410	Nu
Vindecata	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 $10^3/uL$), trombocitelor (310,03 față de 247,07 $10^3/uL$), AST (28,70 față de 22,53 U/I); la lotul „alte micoze” sunt mai mari valorile medii ale eozinofilelor (1282 față de 675 $10^3/uL$), glucozei serice (104,95 față de 95,64 mg/dl), neutrofilelor (35,75 față de 29,90 $10^3/uL$), ureei (40, 24 față de 29,97 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 agresii ce acționează asupra organismului uman odată cu înaintarea în vârstă.

5.2. Cercetări experimentale privind eficiența unor substanțe naturale și de sinteză asupra tulpinilor de levuri și fungi filamentoși implicate în micoze umane

Pentru a proba și evalua acțiunea antifungică a unor extracte naturale și a unor compuși naturali/de sinteză, am derulat un număr de 8 studii, cu diferite experimente, folosind pentru fiecare studiu substanțe și tehnici diferite.

5.2.1 Studiu experimental asupra efectului inhibitor al unor substanțe aplicate în variații de 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 rondeluri 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 45. 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: 25,10%, 23,50%, 28,50%, 28,10%)

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 28,50%). Aplicarea de acid acetic diluat, în concentrație de 28,50%, 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.

5.2.2 Studiu comparativ al acțiunii unor substanțe naturiste asupra *Candidaei albicans* și *Aspergillus* (Olimpia-Nicoleta Moroianu, Nelu-Doru Popescu, Natalia Rosoiu, 2020)

Studiul a fost realizat la Laboratorul de analize al „Centrului Medical Provita 2000” din Constanța în luna februarie 2019 asupra unor culturi fungice.

Experimentul nr. I

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 μl substanță (uleiul respectiv)/ 900 μl ser fizologic pentru:

- Uleiuri esențiale de: Aloe (*Aloe Vera*), eucalipt (*Eucalyptus Globus*), salvie (*Salvia officinalis*), mentă (*Mentha piperita*) produse de Aroma Land;
- Tincturi de: echinacea (*Echinacea purpurea*), usturoi (*Allium sativum* – bulbi de usturoi), propolis, gălbenele (*Calendula officinalis*) de la Dacia Plant.

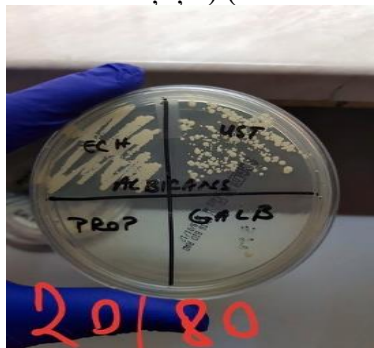
Substanțele au fost aplicate pe culturi de *Candida* /și culturi de *Aspergillus* (prelevat de pe pavilioanele auriculare ale unui pacient).

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

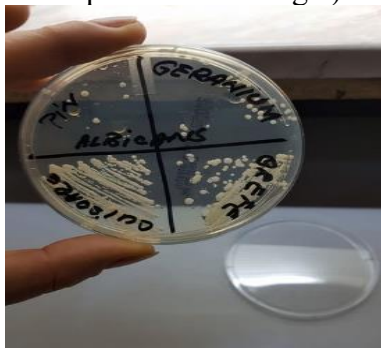
La aplicarea acestor substanțe culturilor pentru tratarea *Candidaei albicans*, cu aceste substanțe și-n aceste condiții, nu s-au constatat modificări.

Am repetat experimentul cu diluțiile: 200 μl substanță/ 800 μl ser fizologic.

De asemenea, am adăugat uleiurile esențiale de: pin (*Pinus Nigra*) și geranium (*Geranium robertianum*), de la Aroma Land, cuișoare (*Syzygium aromaticum*) de la Fares, sămburi de grefe (*Citrus Paradisi*) produs de Steaua divină, lavandă (*Lavandula Angustifolia*) de la Adams, ulei esențial de cimbru (*Satureja hortensis L.*) de la Solaris, precum și tincturile de pătlagină (*Plantago lanceolata folium* – Frunze de pătlagină) și mușețel (*Chamomillae flos-flori de mușețel*) (ambele tincturi sunt produse de Hofigal).



(a)



(b)

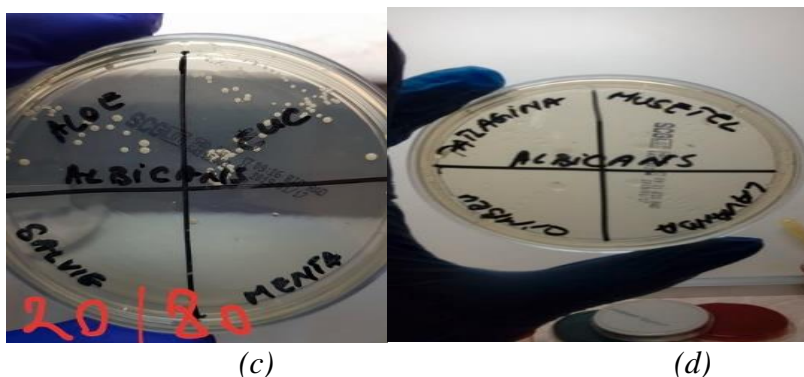


Figura 49 (a, b, c, d) Plăci de cultură însămânțate cu *Candida albicans* pe care s-au aplicat uleiuri de salvie, aloe, eucalipt, mentă, pin, geranium, cuișoare, sămburi de greșe, cimbru, lavandă în concentrație de 20 % și tincturi de echinacea, usturoi, propolis, gălbenele, patlagină, mușeșel

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

- În cazul plăcilor 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.

Am constatat următoarele:

- uleiul de pin și cel de geranium au determinat distrucția parțială (circa 70%) a coloniilor miceliene;
- uleiul din sămburi de greșe 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, mușeșel, gălbenele și propolis au determinat distrucția totală a coloniilor miceliene de asemenea.

Candida este sensibilă la patlagină, mușeșel, galbenele, 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 persoana 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.

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

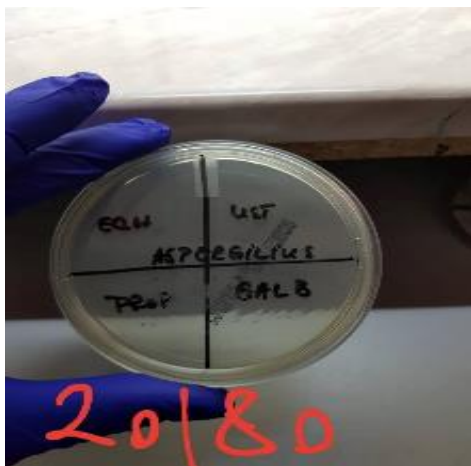
Aloe (*Aloe Vera*), eucalipt (*Eucalyptus Globus*), salvie (*Salvia officinalis*), mentă (*Mentha piperita*) – uleiuri esențiale 10% (la 100 μl ulei + 900 μl ser fiziologic)

echinacea (*Echinacea angustifolia*, *Echinacea purpurea*), usturoi (*Alium sativum*), propolis, gălbenele (*C. Officinalis*) – tincturi

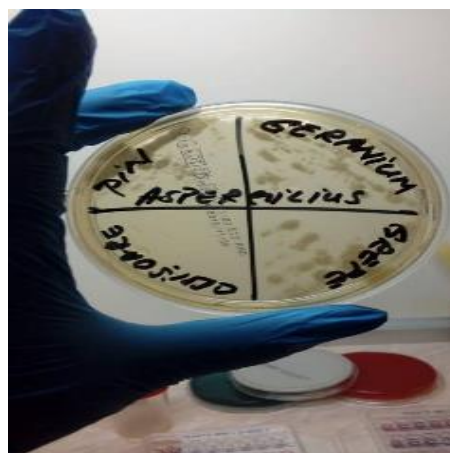
La aplicarea acestor substanțe culturilor pentru tratarea de *Aspergillus*, nu s-au constatat modificări.

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

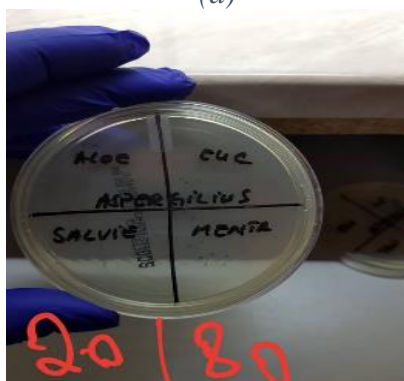
- uleiuri esențiale de: pin (*Pinus nigra*), geranium (*Geranium robertianum*), cuișoare (*Syzygium aromaticum*), grefe (sâmburi de grepefruit), aloe (*Aloe vera*), eucalipt (*Eucalyptus globulus*), salvie (*Salvia officinalis*), mentă (*Mentha piperita*), cimbru (*Satureja hortensis* L.), lavandă (*Lavandula Angustifolia*), ghimbir.
- tincturi de: patlagină, mușetel, echinaceea, usturoi (*Alium sativum*), propolis, gălbenele (*C. Officinalis*), aplicate pe medii de cultură (Moroianu O-N et al., 2019.).



(a)



(b)



(c)



(d)



(e)

Figura 52 (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 fungică în proporție de 100/100 asupra coloniilor de *Aspergillus*.

Discuții

Am constatat că în cazul aplicării unor uleiuri în concentrație de 20% și anume de: cuișoare, aloe, salvie, eucalipt, mentă, precum și al câtorva de tincturi: propolis, echinaceea, usturoi, gălbenele, apare o acțiune fungică asupra coloniilor de *Aspergillus*, după 24 h de incubare. Acest efect nu s-a evidențiat după aplicarea uleiului de: cimbru, geranium, pin, grepe, lavandă ghimbir sau a tincturilor de: mușetel și pătlagină.

Concluzii

Rezultatele celor două experimente demonstrează că în terapia micozelor cutanate sau ale mucoaselor cu *Aspergillus*, poate fi supusă studiului aplicarea locală a unor produse extrase

din plante, comercializate sub formă de uleiuri, în concentrație de 20%, sau a unor tincturi, în starea lor nativă.

5.2.3. 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 mușetel), 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 fizologic.

În acest experiment am folosit ulei esențial de arbore de ceai, oregano, chimen negru, coriandru, rozmarin, ienupăr și tinctură de gălbenele. 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 53 (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 h

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 μl substanță/ 800 μl ser fizologic pentru uleiurile esențiale, iar tinctura de propolis a fost folosită la concentrația produsului.

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

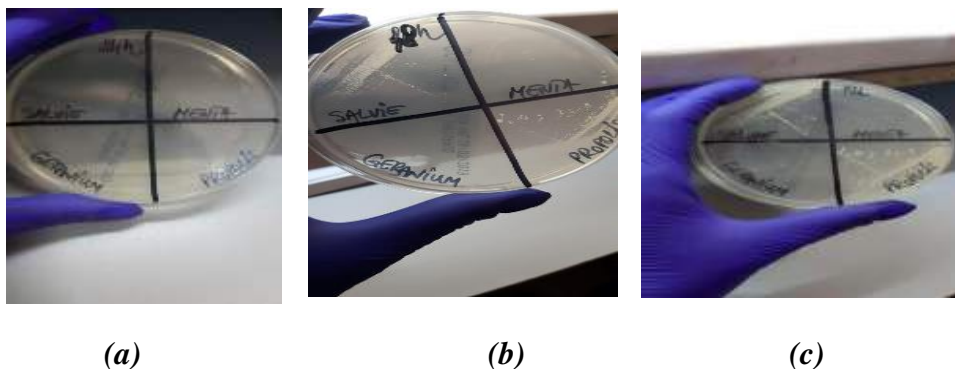


Figura 55 (a, b, c) Plăci de cultură însămânțate cu *Candida albicans* pe care s-au aplicat uleiuri de salvie, mentă, geranium în concentrație de 20%, precum și tinctură de propolis la 24h, 48 h și 72h

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 uleiurile de: lavandă și eucalipt au inhibat cultura de *Candida*, însă după cele 48 h și respectiv 72 h, miceliile au reapărut.

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 μl substanță / 800 μl ser fiziologic; tinctura a fost utilizată direct din sticlă, iar capsulele de graviola au fost dizolvate în 4 ml ser fiziologic.

d. Pe mediile de cultură cu *Candida* am aplicat ulei esențial de cimbru (*Satureja hortensis* L.), 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 sticlute (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 μl substanță și am adăugat 800 μl ser fiziologic. La uleiul de cimbru, ionii de argint (Ag^+) și ioni de aur și argint sensibilitatea 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*, până 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 inefficient.

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 două 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.

g. Oțet din vin de concentrație 9%

Am dizolvat în ser fiziologic o colonie de *Candida albicans* până 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 ml oțet din vin.

Toate diluțiile astfel obținute s-au aplicat pe mediu Sabouraud înșămîntat cu *Candida albicans* și au fost termostătate la temperatura de 37°C.

După 24 de ore s-a putut observa o acțiune inhibitorie la ultima diluție (1/8), însă după 42 h, respectiv 72h 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 rondele 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 *Candidaei 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 coriandruexistente 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 înșămîntare, 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 ineficient în tratarea candidaei. Bitterul din 50 de plante cu ganoderma, picăturile suedeze și mai puțin oțetul 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 candidaei. Pentru oțetul 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 oțet 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 tratarea *Candidaei albicans*.

Concluzii

La finalul studiului am remarcat o acțiune inhibitorie, persistentă după 48 și 72 de ore asupra culturilor de *Candida albicans*, determinată de uleiurile esențiale de oregano (*Origanum vulgare*), cimbru (*Satureja hortensis L.*), geranium (*Geranium robertianum*), de bitterul din 50 de plante cu ganoderma, picăturile suedeze, soluția super- concentrată de Ag și soluția cu ioni de Ag și Au.

În cazul uleiurilor de mentă, eucalipt (*Eucalyptus globulus*), salvie (*Salvia officinalis*), lavandă (*Lavandula angustifolia*), 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. Din acest motiv ar fi recomandabil ca tratamentul cu aceste substanțe să fie repetat la anumite intervale de timp, pentru combaterea cu succes a *Candidaei albicans*.

5.2.4 Studiu al acțiunii unor substanțe chimice și naturiste asupra culturilor de *Candida albicans* (Olimpia-Nicoleta Moroianu, Natalia Rosoiu, 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

Am cercetat acțiunea asupra candidiei a unor uleiuri esențiale de: ghimbir (*Zingiber Officinale*), lămâie (*Citrus Limon*) (de la Hypericum Impex SRL), tămâie (*Thymanea*) și neem (*Azadirachata Indica*), de cedru (*Cedrus*) și cedru Siberian (*Pinus Sibirica*), de pelin (*Artemisia Absinthium*), ulei de magneziu, a tincturii de iod 2%, a soluțiilor cu bicarbonat de sodiu, a cidrului 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 67 (a). Plăci Petri însămânțate cu *Candida albicans* cu compușii chimici folosiți în studiu (tinctura de iod 2%, 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 68. 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 8).

Tabelul 8. 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 73 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 μ l ulei /800 μ l 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 fungică 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 fungică 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 fungică 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 $\text{CH}_3\text{-COOH}$, 1M, am realizat 4 probe diferite pentru studiul propus (vezi **Tabelul 8**).

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 fungică 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 fungică 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 fungică 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 fungică 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 candidelor. 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 *Candidaei albicans*, pe parcursul celor 4 zile de studiu, cu excepția uleiului de cedru, care pentru 24 h a prezentat acțiune fungică 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 incubatie.

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 tratamentul *candidei* pentru cele 4 zile de studiu.

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

5.2.5 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*.

Produsele avute în studiu sunt:

- uleiurile de: musk alb, cânepă (*Canabis sativa*), opium (*Lachryma papaveris*), scortişoară (*Cinnamomum verum*), geranium (*Geranium robertianum*), și santal (*Santalum austrocaledonicum*);
- tinctura de lemn dulce (Răculeț), (rădăcină de *Glycyrrhiza glabra*), tinctura de cimbru de cultură (*Thymus vulgaris*);
- soluția coloidală de cupru.

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.

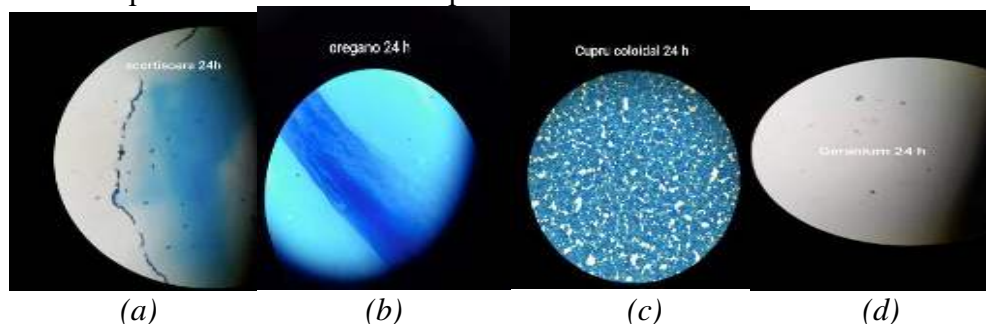


Figura 78 Culturi miceliene pe care s-u aplicat uleiuri de scorțișoară, oregano, geranium, respectiv soluție coloidală de cupru după termostatare timp de 24 de ore, examinate la microscopul optic cu obiectiv x40

Se observă o micșorare a miceliilor în primele 24 de ore în cazul uleiurilor de: geranium și oregano; la soluția de cupru coloidal și uleiul de scorțișoară miceliile nu se micșorează.

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.

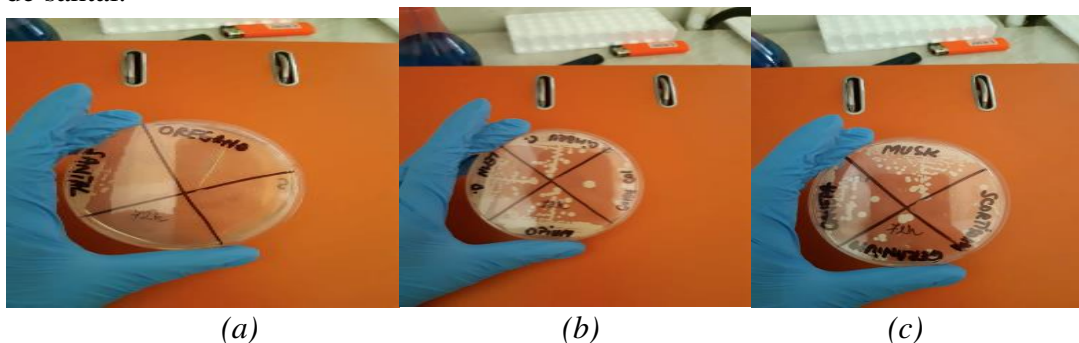


Figura 79 Plăci de cultură însămânțate cu *Candida albicans* pe care s-au aplicat uleiuri de musk alb, scorțișoară, geranium, cânepă, opium, cimbru de cultură, oregano și santal în concentrație de 20 %, precum și tinctură de lemn dulce, respectiv soluție coloidală de cupru la 72 h

După 72 h de la însămânțare, dintre toate substanțele folosite în studiu, uleiul de oregano a inhibat dezvoltarea *Candidaei 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 candidiei.

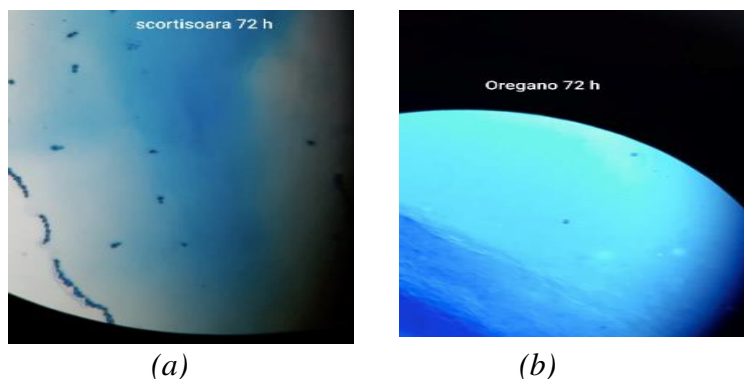


Figura 81 Culturi miceliene pe care s-u aplicat uleiuri de oregano, respectiv scorțișoară, după termostatare timp de 72 h, examinate la microscopul optic având obiectiv 100 X

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 *Candidaei 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 candidiei pe parcursul celor 5 zile coloniile de candida crescând.

Uleiul de oregano a determinat inhibiția în totalitate a culturii, observându-se la microscop că și pe mediu lipsa coloniilor de *Candida albicans* până la sfârșitul celor 120 h.

Concluzii

În cele 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 (rădacini 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 eficace 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 ideea că uleiurile de scorțișoară și geranium, precum și soluția de cupru coloidal, folosite în concentrații mai mari, inhibă cu succes dezvoltarea candidiei.

5.2.6 Studiu cu 15 substanțe naturiste și soluție coloidală de platină asupra *Candida albicans* (Olimpia-Nicoleta Moroianu, Nelu-Doru Popescu, Natalia Roșoiu, 2022)

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 (*Equisetum arvense*), brusture (*Lappa arctium*), anghinare (*Cynara scolymus*), rostopască (*Chelidonium majus*), coada șoricelului (*Achillea millefolium*), ardei iute (*Capsicum annuum*), 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.

Pentru a pune în evidență acțiunea produselor naturiste asupra culturilor de *Candida albicans*, am folosit mediul de cultură standard Sabouraud, pe care am însămânțat eșantioane de *Candida albicans*, dintr-un sortiment etalonat, denumit ATCC 60193.

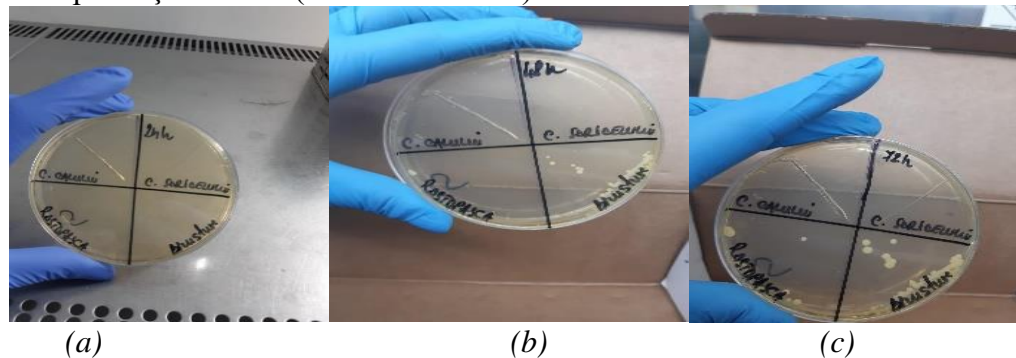
REZULTATE ȘI DISCUȚII

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).



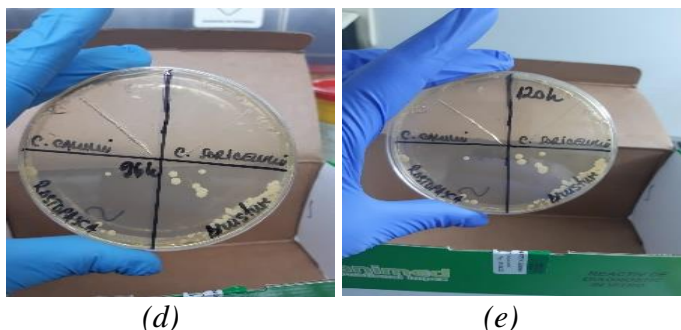


Figura 86 (a, b, c, d, e) Plăci de cultură însămânțate cu *Candida albicans* pe care s-au aplicat diferite tincturi (de coada calului, coada șoricelului, rostopască și brusture) la 24 h, 48 h, 72 h, 96 h și 120 h

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%.

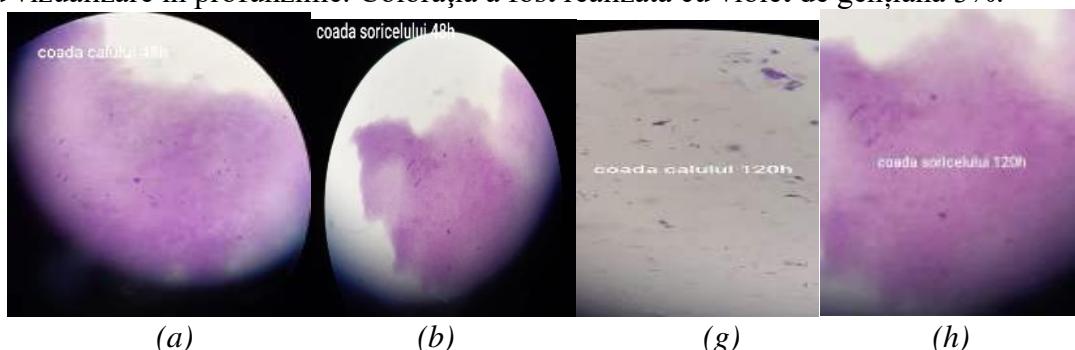


Figura 88. Culturi miceliene pe care am pus tincturi de Coada calului și Coada șoricelului după termostatare timp de 48 h (a, b) și 120 h (g, h) examinate la microscopul optic cu obiectiv x100. În cele 5 zile de studiu cele două tincturi de: coada calului (de la Dacia Plant) și coada șoricelului (produsă 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 μl substanță /700 μl SF.

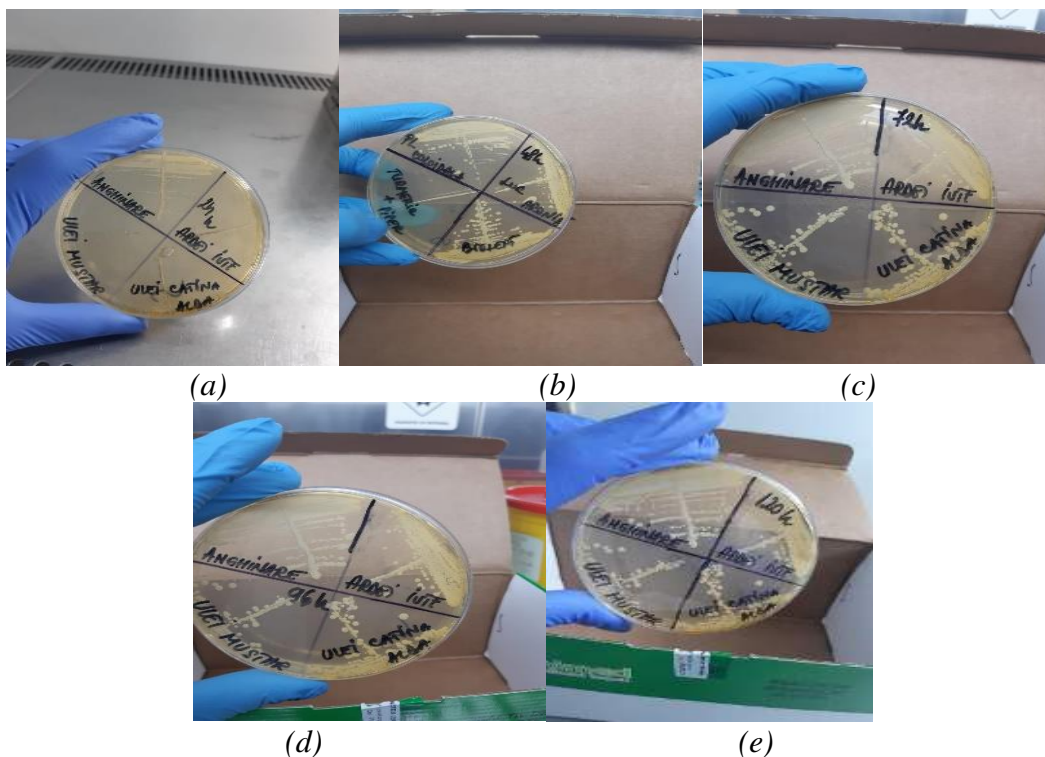


Figura 89. Plăci de cultură însămânțate cu *Candida albicans* pe care s-au aplicat uleiuri de muștar și cătină albă în concentrație de 30 % și tincturi de: anghinare și ardei iute la 24 h (a), 48 h (b), 72 h (c), 96 h (d) și 120 h (e)

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 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 & 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 (*Origani Herba*), lichen de piatră (*Lichen Islandicus*), scorțișoară (*Cinnamomi cortex*), rizomi de ghimbir (*Zingiberis rhizoma*), frunze de măsline (*Oleae 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 & piper a inhibat creșterea culturii de *Candida albicans* din prima zi comparativ cu soluția coloidală de Pt, suc 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.

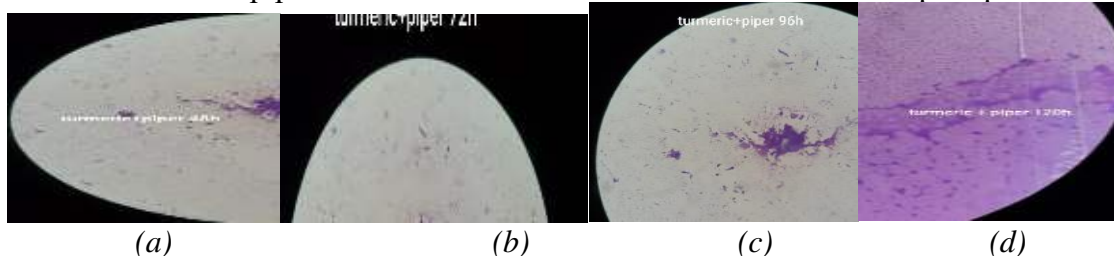


Figura 91. Culturi miceliene pe care am aplicat pastila de turmeric & piper (dizolvată în SF) după termostatare timp de 48 h (a), 72 h (b), 96 h (c) și 120 h (d) examinate la microscopul optic cu obiectiv x 100

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 *Candidei 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 *Candidei albicans*. În cazul tincturii de ardei iute, putem propune folosirea acestui produs de mai multe ori sau în combinație cu alte substanțe anifungice, eventual, în scop preventiv, consumăm ardeiul iute la masă. Pastila de turmeric & 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 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 s-a putut observa la microscopul optic micșorarea numărului de micelii de candida.

În concluzie, cele 3 substanțe avute în studiu: tincturile de: coada calului, de coada șoricelului și capsulele de turmeric & piper pot fi utilizate cu succes în stoparea dezvoltării *Candidei 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 fie separat, fie în combinație cu alte substanțe naturiste cunoscute ca anitifungice.

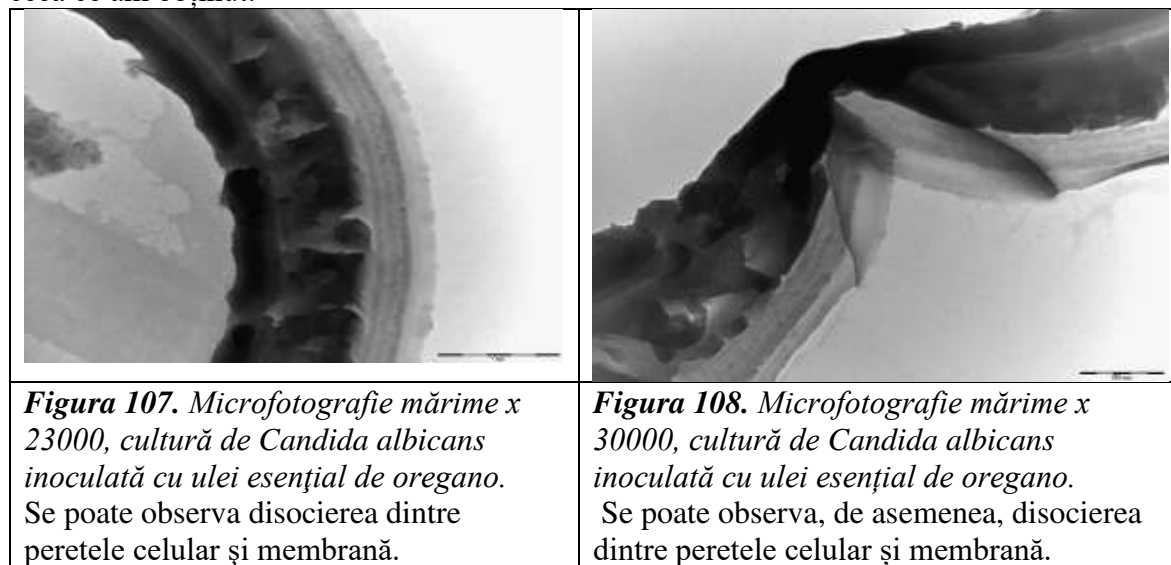
5.2.7 Modificări evidențiate prin microscopia electronică de transmisie (TEM) în culturi de *Candida albicans* inoculate cu ulei de oregano (Olimpia-Nicoleta Moroianu, Nelu-Doru Popescu, Constanța Stefanov, Nicolae Dobrin, Natalia Roșoiu, 2022)

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 (*Origanum vulgare*), 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.



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.2.8 Studiu asupra factorilor interni și externi implicați în patpgenia afecțiunilor determinate de levuri din genul și specia *Candida* (Moroianu Olimpia-Nicoleta, Popescu Nelu-Doru, Gurgas Leonard, Rosoiu Natalia, Olgun Azis, 2023)

Studiul s-a desfășurat în perioada 1-31 august 2017 la „Centrul Medical Iowemed-Medicover” 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 și rezultate

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.



Figura 111. 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 mai multe specii de *Candida*, mai exact 8. Testul acesta poate preciza dacă tulpina testată face parte din genurile: *Geotrichum* sau *Rodothorula*, *Trichosporon*, 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 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 vaginal prin alcalinizarea mucoasei vaginale, respectiv spălături frecvente cu soluții de bicarbonat de sodiu, administrarea de vitamine esențiale 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.

Concluzii generale

Referitor la „Studiul epidemiologic retrospectiv privind factorii de risc și variațiile parametrilor clinici și paraclinici la pacienți cu micoze, privind factorii favorizanți și determinanți ai infecțiilor fungice” am determinat mai multe aspecte.

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 $22,53 \text{ U/I}$); 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 $95,64 \text{ mg/dl}$), neutrofilelor ($35,75$ față de $29,90 \cdot 10^3/\mu\text{L}$), ureei ($40,24$ față de $29,97 \text{ mg/dl}$).

Prin compararea acestor valori, se poate concluziona faptul 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%).

Referitor la „Cercetări experimentale privind eficiența unor substanțe naturale și de sinteză asupra tulpinilor de levuri și fungi filamentoși implicate în micoze umane” se pot distinge următoarele concluzii pentru fiecare studiu în parte:

Studiul nr. 1

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 28,50%).

Aplicarea de acid acetic diluat, în concentrație de 28,50%, determină distrugerea coloniilor de *Candida albicans* atât în vitro, cât și în vivo.

Studiul nr. 2

Prin cele două experimente (cu *Candida*, respectiv *Aspergillus*) din cadrul studiului, se evidentiază faptul că în terapia micozelor cutanate și ale mucoaselor poate fi recomandată aplicarea locală a produselor extrase din plante, comercializate sub formă de uleiuri sau tincturi.

Produsele recomandate sunt:

- a. pentru *Aspergillus*
 - uleiul de: eucalipt, aloe (*Aloe Vera*), salvie (*Salvia officinalis*), mentă (*Mentha piperita*), cuișoare (*Syzygium aromaticum*), precum și tincturile de usturoi, propolis, gălbenele (*Calendula officinalis*.) și echinacea (*Echinacea angustifolia*); au demonstrat după o incubare de 24 de ore, că au acțiune fungicidă în proporție de 100/100 asupra coloniilor de *Aspergillus*.
- b. pentru *Candida albicans*

- tincturile de: gălbenele (*Calendula officinalis*) și propolis, pătlagină (*Plantago lanceolata*), mușețel (*Chamomillae flos*);
- uleiurile de: salvie (*Salvia officinalis*), mentă (*Mentha piperita*), cimbru (*Satureja hortensis* L.) și lavandă (*Lavandula Angustifolia*).

Concentrația recomandată este de 20%, în aplicații zilnice, până la completa vindecare.

Studiul nr. 3

La finalul studiului am remarcat o acțiune inhibitorie asupra culturilor de *Candida albicans*, determinată de uleiurile esențiale: de oregano (*Origanum vulgare*), cimbru (*Thymus vulgaris*), geranium (*Geranium robertianum*), de bitterul din 50 de plante cu 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 oțet 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 *Candidaei 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 (*Origanum vulgare*);
- uleiului esențial de geranium (*Geranium robertianum*);
- uleiului esențial de cimbru (*Satureja hortensis* L.);
- bitterul din 50 de plante și cu ganoderma;
- picăturile suedeze;
- soluția coloidală superconcentrată cu Ag;
- soluția coloidală cu ioni de Ag și Au.

Se pot aplica în mod repetat produsele utilizate în studiu, cu scopul obținerii unei vindecări de durată.

Studiul nr. 4

Concentrațiile uleiurilor utilizate în studio au fost de 20%.

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 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 albicans* re apare.

Cele 2 soluții de bicarbonat de sodiu pe care le-am folosit în studiu s-au dovedit inactice în tratarea *Candidaei* pe parcursul celor 4 zile de experiment.

De asemenea, 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*.

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 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 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 (*Citrus limon*) și uleiul de tămâie (*Thymanea*) pot fi folosite în mod repetat/ alternativ cu alte substanțe antifungice.

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 2% și uleiul de ghimbir (*Zingiber officinale*) și-au demonstrat rolul antifungic în tratarea candidiei pe parcursul celor 4 zile de studiu.

Studiul nr. 5

Pentru studiul de 120 de h cu substanțe folosite în vederea comabterii 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, și santal în concentrație de 20%, precum și tinctură de lemn dulce (rădăcini de *Glycyrrhiza glabra*), tinctura de cimbru de cultură (*Thymus vulgaris*) respectiv soluție coloidală de cupru.

Se poate face observația că acțiunea tincturii din cimbru de cultură este mai puțin eficientă decât cea a uleiului esențial de cimbru, folosit într-un alt experiment. Astfel, tinctura 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 (*Cinnamomum verum*) și geranium (*Geranium robertianum*), precum și soluția de cupru coloidal, folosite în concentrații mai mari, ar putea inhiba cu succes dezvoltarea candidiei.

Studiul nr. 6

Substanțele utilizate în studiu (uleiurile esențiale) au fost aplicate în concentrații mai mari, de 30%

În cele 5 zile de experiment am constatat faptul că tincturile de coada calului și coada șoricelului spre deosebire de tincturile de: rostopască și brusture au inhibat dezvoltarea *Candidiei albicans* din prima zi până în ultima zi de experiment. BIOMICIN FORTE A15 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 și coada șoricelului, precum și capsulele de turmeric & piper), 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 (*Equisetum arvense*), tinctura de coada șoricelului (*Achillea millefolium*), precum și capsulele de turmeric & piper (*Curcuma longa* & *Piper nigrum*) acestea pot fi utilizate cu succes în stoparea dezvoltării *Candidiei albicans* și într-o mai mică măsură sau, eventual, prin aplicarea în mod repetat, pentru un efect de durată, se poate apela și la tinctura de ardei iute, fie separat, fie în combinație cu alte substanțe naturiste cunoscute ca antifungice.

Studiul nr. 7

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 sinergice a timolului și, respectiv, carvacrolului, din compoziția uleiului esențial de oregano și are efect remanent, în același timp ireversibil, în combaterea candidiei.

Studiul nr. 8

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.

În urma studiilor de cercetare, au fost identificate numeroase substanțe naturale și sintetice capabile să combată infecții considerate adesea dificil de vindecat, precum *Candida albicans* și Aspergiloza. Există multiple posibilități de a utiliza aceste substanțe, fie individual, fie în combinații specifice, pentru a obține un efect antifungic rapid. Concentrația acestor substanțe joacă un rol crucial; s-a observat că la concentrații mai mari (20%, 30% etc.), fie că sunt uleiuri esențiale sau alte produse terapeutice disponibile pe piață, se obține un randament ridicat în tratarea micozelor.

Astfel, au fost identificate numeroase produse (uleiuri, tincturi, produse terapeutice etc.) eficiente în cazul infecțiilor recidivante cu *Candida* sau alte ciuperci.

În urma analizei rezultatelor obținute în cele două studii, se pot formula următoarele constatări și concluzii:

- Prin compararea valorilor celor două loturi candidoze/ „alte micoze” din studiul epidemiologic retrospectiv, se poate concluziona faptul 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 observație poate fi explicată ca o consecință a efectului antimicrobian al antibioticelor asupra florei microbiene saprofite, protectoare față de dezvoltarea *Candidaei albicans*.

a. Produsele recomandate pentru *Aspergillus*:

- Uleiurile esențiale de eucalipt (*Eucalyptus globulus*), aloe (*Aloe Vera*), salvie (*Salvia officinalis*), mentă (*Mentha piperita*), cuișoare (*Syzygium aromaticum*) în concentrație de 20%, precum și tincturile de usturoi, propolis, gălbenele (*Calendula officinalis*) și echinacea (*Echinacea purpurea*) au demonstrat, după o incubare de 24 de ore, o acțiune fungicidă de 100% asupra coloniilor de *Aspergillus*.

b. Produsele recomandate pentru *Candida albicans*:

- Aplicarea de acid acetic 1M diluat, în concentrație de 28,50%, determină distrugerea coloniilor de *Candida albicans* atât în vitro, cât și în vivo;

- Uleiurile de: salvie (*Salvia officinalis*), mentă (*Mentha piperita*) și lavandă (*Lavandula Angustifolia*,) care au inhibat 24 h candida și, până la 72 h doar parțial;

- Ulei esențial de cimbru (*Satureja hortensis* L.) a avut efect antifungic 3 zile spre deosebire de tinctura de cimbru de cultură care nu a stopat dezvoltarea candidiei nici 24 h din cele 120 h zile de studiu;
- Bitterul din 50 de plante cu ganoderma și picăturile suedeze (au avut efect antifungic 72 h);
- Soluția coloidală superconcentrată cu ioni de Ag, soluția coloidală cu ioni de Ag și Au au inhibat dezvoltarea candidiei în cele 3 zile de studiu;
- Tinctura de iod 2% și uleiul de ghimbir (*Zingiber officinale*) și-au demonstrat rolul antifungic în tratamentul candidiei pe parcursul celor 4 zile de studiu;
- Uleiul de lămâie (*Citrus limon*) și uleiul de tămâie (*Thymanaea*), uleiul de scorțișoară (*Cinnamomum verum*/C. *Zeylanicum*) pot fi folosite în mod repetat/ alternativ cu alte substanțe antifungice; au inhibat dezvoltarea candidiei pentru 24 h și, ulterior, într-o măsură mai mică după 48 h de la însămânțare, până la 96 h;
- Oțetul de mere cu efect antifungic pentru 24 de ore și parțial până la 96 de ore;;
- Uleiul de ardei iute (*Capsicum annuum*) și cidrul de mere pentru 24 h din cele 96 h de studiu;
- Uleiul esențial de oregano (*Origanum vulgare*) – a prezentat efect antifungic 120 h ;
- uleiul esențial de geranium a inhibat 24 h dezvoltarea candidiei și parțial până la 48 h din 120 h de studiu;
- Uleiul esențial de geranium (*Geranium robertianum*) și soluția de cupru coloidal au menținut Candida la același nivel pe parcursul celor 120 de ore, demonstrând că utilizarea acestor produse în concentrații mai mari ar putea inhiba cu succes dezvoltarea Candida; uleiul de geranium (*Geranium robertianum*) și soluția de cupru coloidal pe parcursul celor 120 h au menținut candida la același nivel, ceea ce demonstrează că utilizarea acestor produse în concentrații mai mari, ar putea inhiba cu succes dezvoltarea candidiei;
- Tinctura de coada calului (*Equisetum arvense*), tinctura de coada șoricelului (*Achillea millefolium*) și capsulele de turmeric & piper (*Curcuma longa* & *Piper nigrum*) au inhibat dezvoltarea Candida albicans pe parcursul celor 120 ore;
- Uleiul esențial de oregano (*Origanum vulgare*) are efect remanent, în același timp ireversibil, în combaterea candidiei (TEM în acest sens);
- Tinctura de coada calului (*Equisetum arvense*), tinctura de coada șoricelului (*Achillea milefolium*), precum și capsulele de turmeric & piper (*Curcuma longa* & *Piper nigrum*) au inhibat dezvoltarea *Candidiei albicans* pe parcursul celor 120 de ore;
- Concentrația recomandată pentru uleiurile esențiale și alte produse este de 20% sau chiar mai mare, în aplicații zilnice, până la completa vindecare
- Toate pozele din studiile efectuate sunt originale.

În concluzie, în diverse tipuri de micoze, substanțele acționează diferențiat; studiul poate fi extins pentru a include mai multe substanțe naturale și poate fi continuat comparativ cu alte culturi de miceli.

Este foarte important să ne menținem organismal sănătos pentru că în anumite situații, când organismal este slăbit, se pot instala cu ușurință tot felul de infecții fungice.

Rezultatele studiilor evaluate pot fi aplicate ca o alternativă în combaterea micozelor, complementar tratamentelor medicamentoase uzuale.

Originalitatea studiului efectuat constă în extinderea sferei stadiului cunoașterii prin actualități biomedicale în micozele cutanate.

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

1. Abdulgaffar O., Abbas H., Karim M., Samira E. (2010). Antifungal effects of Thyme, Agastache and Satureja essential oils on *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus flavus* and *Fusarium solani*, Veterinary Research Forum, vol.1, no. 2, 99-105, [Antifungal Effects of Thyme, Agastache and Satureja Essential Oils on Aspergillus fumigatus, Aspergillus flavus and Fusarium solani \(iranjournals.ir\)](http://iranjournals.ir)
2. Afsharipour M, Mahmoudi S, Raji H et al (2022). Three –year evaluation of nosocomial infections in pediatrics: bacterial and fungal profile and antimicrobial resistance pattern, *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 21, 6, 1-15, [Three-year evaluation of the nosocomial infections in pediatrics: bacterial and fungal profile and antimicrobial resistance pattern - PubMed \(nih.gov\)](http://nih.gov)
3. Alexandru Mihaela, Marcean Crin, Mihăilescu Vladimir Manta (2020). Microbiologie, Virusologie, Parazitologie -Manual pentru școlile postliceale sanitare, Editura Medicală București, 15-276
4. Almeida, F., Rodrigues, M.L. and Coelho, C., (2019). The still underestimated problem of fungal diseases worldwide. *Frontiers in Microbiology*, vol. 10, pp. 214. <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2019.00214>. PMID: 30809213, [The Still Underestimated Problem of Fungal Diseases Worldwide - PMC \(nih.gov\)](http://nih.gov)
5. Alvarez-Moreno, C.A., Cortes, J.A.& Denning D.W., (2018). Povara infecțiilor fungice în Columbia. *Journal of Fungi*, vol.4, nr. 2, p. 41. <http://dx.doi.org/10.3390/jof4020041>. PMID: 29561795, [Burden of Fungal Infections in Colombia - PMC \(nih.gov\)](http://nih.gov)
6. Andrade R., Gumport SL., Popkin GL., Rees TD (sub red) (1985). *Cancer Of The Skin*, WB Saunders
7. Anthony Y. (2017). Structure of normal skin | DermNet New Zealand. Retrieved from [The structure of normal skin | DermNet \(dermnetnz.org\)](http://dermnetnz.org)
8. Apetrei Ingrid Cezara, Bazgan Olimpia, Petru Cazacu, et al., *Tehnici de laborator în micologia medicală*, Iași-2007; 165
9. Arda O., Göksüğü 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>
10. Arnold. H L., Odom RB., James WD. *Andrews' diseases of the skin: clinical dermatology*. ed. a 8-a, WB Saunders, 1990
11. Guarda A., Rubilar J.F., Miltz J., Galatto M.J. (2011), The antimicrobial activity of microencapsulated thymol and carvacrol, *International Journal of Food Microbiology*, vol.146, no.2., 144-150, [The antimicrobial activity of microencapsulated thymol and carvacrol - PubMed \(nih.gov\)](http://nih.gov)
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 resistance 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 Sciencescape), Microsoft Academic, Naviga (Softweco), Primo Central (ExLibris), Publons, PubHub, 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 N.-D., Petcu L.C., Gurgas L., Rosoiu N., Preliminary Comparative Study on Patients 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. **Moroianu O.-N.**, Popescu N.-D., Ursu A.R., Rosoiu N..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, Ursu 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.-D., 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. **Moroianu Olimpia-Nicoleta**, Popescu Nelu-Doru, Ursu Alina Raluca, Hangan Tony Laurențiu, Rosoiu Natalia, 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, 2022, Via Carlo Pisacane, 10, Florence, Italy, 6-11, <https://doi.org/10.5281/zenodo.7107664>

9. **Moroianu O.-N.**, Popescu N.-D., Roşoiu N., Study with 15 Natural Substances and Colloidal Platinum Solution on *Candida Albicans*, Norwegian Journal of Development of the International Science, No.105, ISSN 3453-9875, Norway, Oslo, 36-44, Not-indexed in the ICI journals Master List 2022, <https://doi.org/10.5281/zenodo.7778891>

10. **Moroianu O.-N.**, Popescu N.-D., Gurgas L., Rosoiu N., Azis O., Study on the Internal and External Factors Involved in the Phathogenesis of Diseas Determined by *Candida Genus* and Species, Journal of Science. Lyon, No. 41, ISSN 3475-3281, 2023, Lyon, France, 11-20, the journal is indexed in: SJIFactor.com, <https://doi.org/10.5281/zenodo.7801334>

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

1. **Moroianu O.-N.**, Rosoiu N., Mucocutaneous Mycosis (Dermatomycosis), Academia Oamenilor de Știință din România, Sesiunea Științifică de Toamnă, 22-24 septembrie Durău , Neamț, 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 Timișoara, 60-61, (2017), www.aos.ro

3. **Moroianu O.-N.**, Rosoiu N., Gurgas L., Study of the Inhibitory Effect of Some Substances Appleied in Various Dilutions on *Candida Albicans* Cultures, Academia Oamenilor de Știință din România, Conferința Științifică de Toamnă, Târgoviște, 52-53, (septembrie 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 Primavară, București (aprilie 2019), www.aos.ro

5. **Moroianu O.N.**, Rosoiu N., Dr. Popescu Nelu–Doru, How Can We Treat *Aspergillus?*, Academia Oamenilor de Știință din Romania, Conferința Științifică de Primavară, București (aprilie 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 Primavara, 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 Primavară, (2022), www.aos.ro

Participări la congrese științifice naționale și internaționale

1. **Moroianu O.-N.**, Rosoiu N., Mucocutaneous Mycosis (Dermatomycosis), Academia Oamenilor de Știință din România, Sesiunea Științifică de Toamnă, 22-24 septembrie Durău, Neamț, (2016)- prezentarea unui material PowerPoint

2. **Moroianu O.-N.**, Rosoiu N., Gurgas L., Conferința Științifică de Toamnă, Septembrie, Târgoviște (2018)

- 3. Moroianu O.- N.** - Conferința de diseminare a proiectului Erasmus+, Tehnicienii formați în standarde europene pentru construcțiile mileniului III, desfășurată la Liceul Tehnologic „Tomis” Constanța – Școală Europeană (iunie 2019) (adeverință)
- 4. Moroianu Olimpia-Nicoleta.**, Popescu Nelu-Doru, Roșoiu Natalia, Study With 11 Natural Substances and Colloidal Platinum Solution on *Candida Albicans*, WOC-World of Conferences, Proceedings of the V International Scientific and Practical Conference. Challenges and problems of modern science, 23-24 March 2023, ISBN 978-92-44513-42-2, United Kingdom, London, 51-58, <https://doi.org/10.5281/zenodo.7775811>
- 5. Moroianu Olimpia-Nicoleta**, Popescu Nelu-Doru, Rosoiu Natalia, Study of the Fungicidal Action of 7 Natural Substances on *Candida Albicans* Colonies, WOC-World of Conferences, IV International scientific conference. Development of science in the XXI century. 30-31.03.2023, ISBN 978-92-44513-43-9, Dortmund, Germany, 45-50, <https://doi.org/10.5281/zenodo.7798102>
- 6. Moroianu O-N.** - Manifestarea științifică „Omul. Mediul. Poluarea”, secțiunea Comunicări științifice 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 cei 2 elevi de la Colegiul Comercial „Carol” Constanța de la clasa a IX-a B pentru deosebita contribuție; menționez faptul că sunt membru al Societății de Chimie din Romania (iunie 2022) - material PowerPoint
- 7. Moroianu O-N.** - Manifestarea științifică „Omul. Mediul. Poluarea” la Universitatea „Ovidius” Constanța în cadrul Societății de chimie din România aflată la a 10-a ediție, unde am primit diplomă de participare alături de un elev de clasa a IX-a al Liceului Tehnologic „Tomis”- Școală Europeană Constanța (iunie 2023) - material PowerPoint
- 8. Moroianu O-N.** - Manifestarea științifică „Omul. Mediul. Poluarea”, tema „Pentru un viitor mai bun”, secțiunea Comunicări științifice la Universitatea „Ovidius” Constanța în cadrul Societății de chimie din România aflată la a 11-a ediție, unde am primit diplome de participare atât eu, cât și cei 9 elevi de la Școala Gimnazială Nr. 40 „Aurel Vlaicu” Constanța de la clasele a VII-a pentru deosebita contribuție (mai 2024) – 3 materiale PowerPoint și 2 afișe.