



**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD**  
**ESCUELA PROFESIONAL DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y**  
**BIOQUÍMICA**

**TESIS**

**“ACTIVIDAD ANTIMICOTICA DE UN GEL FORMULADO A BASE DE ACEITE**  
**ESENCIAL DE *Origanum vulgare L* (ORÉGANO) FRENTE A *Candida albicans*”**

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE QUÍMICO**  
**FARMACÉUTICO**

**AUTORES**

**Bach. DEZA CALLE Rosa Elena**

**Bach. BUSTAMANTE VILLAFANA Gavi del Rosario**

**ASESOR**

**Mg. Q.F. Enrique Juan Solgorré Contreras**

**LÍNEA DE INVESTIGACIÓN: Recursos Naturales**

**Huancayo – Perú**

**2021**

## **Dedicatoria**

A Dios y mis padres, por brindarme las fuerzas necesarias para seguir adelante a pesar de las dificultades de la vida y acompañarme en cada decisión y en cada momento de mi vida.

A mis hijos Diego, Leonardo, Piero y mi esposo Martin, por ser el motor de mi vida que me impulsa a ser cada día mejor, por su amor y apoyo incondicional que me impulsan siempre a cumplir mis sueños.

**Rosa Elena Deza Calle**

A Dios por guiar mi camino, por darme siempre las fuerzas para continuar por el sendero de lo sensato y darme sabiduría en situaciones difíciles.

Con mucho amor y cariño para mi hijo Gabriel y mi esposo Cesar Paredes, quienes me dan la fortaleza para seguir adelante y por su apoyo incondicional hasta el día de hoy.

**Gavi del Rosario Bustamante Villafana.**

## **Agradecimiento**

A la Universidad Privada de Huancayo Franklin Roosevelt que nos acogió y dio la oportunidad de obtener el título profesional y a nuestro asesor Enrique Juan Solgorré Contreras, por apoyarnos durante el proceso de elaboración de nuestra tesis.

A mi esposo Martin Silva Romero, por su gran ayuda para el éxito de este estudio de investigación y a todas aquellas personas que han colaborado en su realización.

**Rosa Elena Deza Calle**

A la universidad Privada de Huancayo Franklin Roosevelt por permitirnos obtener el título profesional y a nuestro asesor Enrique Juan Solgorré Contreras, por apoyarnos durante el proceso de elaboración de nuestra tesis.

**Gavi del Rosario Bustamante Villafana.**

## **Página del jurado**

### **PRESIDENTE:**

---

Mg. Q.F Antonio Fernando Quezada Reyes

### **MIEMBRO SECRETARIO:**

---

Mg. Q.F Daniel Nañez Del Pino

### **MIEMBRO VOCAL:**

---

Mg. Q.F Enrique Juan Solgorre Contreras

### **MIEMBRO SUPLENTE:**

---

Mg. Q.F Carlos Max Rojas Aire

## Declaratoria de autenticidad

Yo, ROSA ELENA DEZA CALLE de Nacionalidad Peruana, identificado con, DNI N.º 43682357, Tesista de la Universidad Privada de Huancayo Franklin Roosevelt, Bachiller en Farmacia y Bioquímica, domiciliado en Urbanización La Ensenada Mz A Lt 8, distrito de Pimentel – Chiclayo - Lambayeque, DECLARO BAJO JURAMENTO: QUE TODA LA INFORMACIÓN PRESENTADA ES AUTÉNTICA Y VERAZ. Me afirmo y me ratifiqué en lo expresado, en señal de lo cual firmo el presente documento a los 18 días del mes de marzo del 2021.



---

Rosa Elena Deza Calle



HUELLA DIGITAL

## Declaratoria de autenticidad

Yo, GAVI DEL ROSARIO BUSTAMANTE VILLAFANA de Nacionalidad Peruana, identificado con, DNI N.º 16769612, Tesista de la Universidad Privada de Huancayo Franklin Roosevelt, Bachiller en Farmacia y Bioquímica, domiciliado en Jr. Nicolas Cuglievan 430, distrito de José Leonardo Ortiz – Chiclayo - Lambayeque, DECLARO BAJO JURAMENTO: QUE TODA LA INFORMACIÓN PRESENTADA ES AUTÉNTICA Y VERAZ. Me afirmo y me ratificó en lo expresado, en señal de lo cual firmo el presente documento a los 18 días del mes de marzo del 2021.



---

Gavi del Rosario Bustamante Villafana

FIRMA



HUELLA DIGITAL

## Índice

Dedicatoria .....	ii
Agradecimiento .....	iii
Índice .....	vii
RESUMEN .....	viii
ABSTRACT .....	ix
I. INTRODUCCIÓN .....	1
II. MÉTODO .....	10
2.1. Tipo y diseño de investigación.....	10
2.2. Operacionalización de variables.....	11
2.3. Población, muestra y muestreo .....	12
2.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos, validez y confiabilidad .....	12
2.5. Procedimiento .....	13
2.6. Método de Análisis de datos.....	16
2.7. Aspectos éticos .....	16
III. RESULTADOS .....	18
IV. DISCUSIÓN .....	23
V. CONCLUSIONES.....	25
VI. RECOMENDACIONES .....	26
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	27

### Anexos

- Anexo 1. Matriz de consistencia*
- Anexo 2. Certificación taxonómica de la especie vegetal*
- Anexo 3. Efecto antimicótico del gel de orégano*
- Anexo 4. Operacionalización de las variables*
- Anexo 5. Estadística descriptiva de los grupos de datos trabajados*
- Anexo 6. Prueba de Normalidad – Kolmogorov Smirnov*
- Anexo 7. Prueba de homogeneidad de varianzas*
- Anexo 8. Evidencias del trabajo de campo*

## RESUMEN

**Objetivo:** Demostrar la actividad antimicótica del gel formulado a base de aceite esencial de *Origanum vulgare L* (orégano) frente a *Candida albicans*.

**Metodología:** Corresponde a un estudio de investigación experimental y transversal, el aceite esencial se obtuvo por la técnica de arrastre de vapor al cual se le determinó sus parámetros físico-químicos (índice de refracción, densidad, pH y solubilidad) y se preparó a concentraciones del 2.5%, 5%, 10%, 15% y 20% para determinar a través del método de macro dilución su concentración mínima inhibitoria (CMI) frente a *Candida albicans*. Se elaboró un gel a base de aceite esencial de orégano a las concentraciones del 2.5% y 5% y se realizaron controles de ensayos de calidad, asimismo se determinó el efecto antimicótico mediante el método de difusión en pozo usando como control positivo Clotrimazol.

**Resultados:** Se obtuvo un índice de refracción del aceite de orégano de 1.471, una densidad del 0.919, así mismo, se observó que el aceite es soluble en etanol de 96° y medianamente soluble en etanol de 70°, se obtuvo un CMI de 2.5%, con respecto a los parámetro de calidad del gel de orégano se observó un aspecto uniforme de la muestra, homogéneo con una extensibilidad de 23900mm<sup>2</sup> y un pH de 6.5, el ANOVA mostró diferencia significativa en al menos uno de los grupos analizados y la prueba de Tukey confirmo que todos los grupos poseen efectos estadísticamente diferente con un valor promedio del halo de inhibición de 6.23mm, 14.75mm, 17.67mm y 22.45mm para el gel base, gel al 2.5%, gel al 5% y el clotrimazol en crema respectivamente.

**Conclusiones:** Se demostró la actividad antimicótica del gel de orégano al 2.5% y 5%, sin embargo, obtuvieron menor eficacia antimicótica que la crema de clotrimazol frente a *Candida albicans*.

## ABSTRACT

**Objective:** To demonstrate the antifungal activity of the gel formulated with the essential oil of *Origanum vulgare* L (oregano) against *Candida albicans*.

**Methodology:** An experimental study was used cross-sectional research study, the essential oil was obtained by the steam entrainment technique to which its physico-chemical parameters (refractive index, density, pH and solubility) were determined and it was prepared at concentrations 2.5%, 5%, 10%, 15% and 20% to determine through the macro dilution method its minimum inhibitory concentration (CMI) against *Candida albicans*. A gel based on essential oil of oregano was made at concentrations of 2.5% and 5% and quality test controls were carried out, also the antifungal effect was determined by the well diffusion method using Clotrimazole as a positive control.

**Results:** A refractive index of oregano oil of 1.471 was obtained, a density of 0.919, likewise, it was observed that the oil is soluble in ethanol of 96 ° and moderately soluble in ethanol of 70 °, an CMI of 2.5 was obtained %, with respect to the quality parameters of the oregano gel, a uniform appearance of the sample was observed, homogeneous with an extensibility of 23900mm<sup>2</sup> and a pH of 6.5, the ANOVA showed a significant difference in at least one of the groups analyzed and the test of Tukey confirmed that all groups have statistically different effects with an average value of the inhibition halo of 6.23mm, 14.75mm, 17.67mm and 22.45mm for the base gel, 2.5% gel, 5% gel and clotrimazole cream respectively. .

**Conclusions:** The antifungal activity of oregano gel was demonstrated at 2.5% and 5%, however, they obtained less antifungal efficacy than clotrimazole cream against *Candida albicans*.

## I. INTRODUCCIÓN

Las infecciones micóticas son enfermedades que atacan al ser humano, en donde unos de los microorganismos más implicados son los hongos del género *Candida spp.* Específicamente *Candida albicans* es un hongo oportunista frecuente en la comunidad, así como a nivel intrahospitalario, pudiendo ocasionar desde una candidiasis superficial hasta una candidiasis sistémica, además, la resistencia que desarrolla este microorganismo a los fármacos convencionales, conlleva a un tratamiento terapéutico ineficaz.<sup>1</sup>

Anualmente a nivel mundial más de 300 millones de personas de todas las edades han sufrido un tipo de infecciones fúngicas grave, de la cual 1,66 millones mueren cada año, siendo el patógeno principal *Candida albicans*. Además, en los Estados Unidos el género *Candida spp.* se encuentra dentro de los cinco patógenos responsable de las micosis sistémicas con un porcentaje de invasión al torrente sanguíneo de 8% a 10%.<sup>2</sup>

Por otro lado, en América Latina los episodios de candidemia en menores de 18 años internados en hospitales, indicaron que el 29% se produce en neonatos y que la principal especie encontrada fue *Candida albicans*, también revelaron que la tasa de mortalidad fue de 31% para los niños y 35% para pacientes de 13 a 18 años. En Colombia se reportó que la candidemia presenta la tasa más alta de incidencia de 1,98 casos. Asimismo, indico que la candidiasis invasiva representa el 88% de infecciones fúngicas en pacientes hospitalizados con una mortalidad que varía entre el 36 y 40%.<sup>3,4</sup>

En el Perú mediante un estudio retrospectivo de enfermedades fúngicas en el Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas (INEN) en el periodo 2012 a 2016. Se halló que las infecciones sistémicas causadas por *Candida albicans* eran más habituales (54,0%) en pacientes con tumor, además *C. albicans* aumento su frecuencia de 14,7% a 31,0% durante el tiempo de estudio<sup>4</sup>.

En el Hospital Regional Docente las Mercedes en Lambayeque existen reportes del aislamiento de *Candida albicans* resistente a la nistatina, medicamento muy usado en este tipo de micosis<sup>5</sup>.

El estudio elaboró de un gel formulado a base del aceite esencial de *Origanum vulgare L* (orégano) el cual puede combatir infecciones producidas por *Candida albicans*, la cual

contribuirá a la salud de la población como una alternativa de tratamiento de bajo costo y de rápido acceso. Asimismo, logrará disminuir los efectos adversos que producen los fármacos antimicóticos con una alternativa de origen natural.

Con respecto a los antecedentes nacionales el estudio ha tomado como referencias a Francisca R., (2019), con su estudio titulado “Efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) sobre *Salmonella typhi*” el objetivo fue evaluar el efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de *Origanum vulgare* sobre *Salmonella typhi*. En su metodología se menciona que el aceite esencial de orégano fue preparado al 5%, 25%, 50%, 75% y 100% para determinar su concentración mínima inhibitoria (CMI) y concentración mínima bactericida (CMB), así como el método de Kirby-Bauer sobre cultivos de *S. typhi*, indicando que el aceite de orégano al 75% y 100% presentaron mayor efecto antibacteriano comparado con las otras concentraciones. Concluyó que *S. typhi* es altamente sensible al *Origanum vulgare* al 75% y 100% y que la CMI y la CMB del aceite esencial del orégano es del 5% frente a *S. typhi*<sup>6</sup>.

Del mismo modo Colpa M., (2017), en su estudio titulado “Efecto inhibidor del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) y *Mentha piperita* (menta) frente a cepas de *Candida albicans*” en la Universidad Privada Norbert Wiener. Tuvo por objetivo determinar el efecto inhibidor del aceite esencial de *Origanum vulgare* y *Mentha piperita* en comparación a la nistatina frente a cepas de *Candida albicans*. Para la metodología se aplicó el método de difusión en pozos, en placas con cultivos de *Candida albicans*. Los resultados del aceite de orégano al 100% y en 24 horas formo un halo entre 22.30mm y 45.73mm, a las 48 horas 22.65mm a 46.35mm. Concluyeron que el aceite de *Origanum vulgare* presenta un halo de inhibición mayor que la Nistatina a las 24 y 48 horas de su aplicación<sup>7</sup>.

Así mismo, Villavicencio J., Moromi H., Salcedo D., Pineda M., Ramos D., Zambrano L., et al (2017), en su artículo titulado “Efecto antimicótico in vitro de *Origanum vulgare* sobre cepas de *Candida albicans*” de la Revista Odontología Sanmarquina. Con el objetivo de evaluar el efecto antimicótico in vitro de aceite esencial de *Origanum vulgare*, sobre cepa de *Candida albicans* ATCC 1023, realizó un análisis fitoquímico del aceite y determino su efecto antimicótico a través del método de difusión en disco. Los resultados obtenidos indicaron un gran efecto antimicótico de todos los aceites esenciales a partir de 12.5% de concentración, concluyendo que el aceite esencial de *Origanum vulgare* puede ser una opción terapéutica en el tratamiento de infecciones micóticas en la cavidad bucal<sup>8</sup>.

De la misma manera, existen antecedentes internacionales como el de Moreno P. y Ronquillo B., (2018), titulado “Evaluación de la inhibición del crecimiento de tres cultivos bacterianos mediante la aplicación de un gel antibacterial formulado a base de aceite esencial de orégano (*Origanum Vulgare*) y proteína de suero de leche aislada”. Su objetivo fue evaluar la inhibición del crecimiento de tres cultivos bacteriano: *E. Coli*, Aerobios Mesófilos Totales y Mohos mediante la elaboración y aplicación de un gel antibacterial formulado a base de aceite esencial de orégano y proteína de suero de leche aislada. Los resultados mostraron que a partir de la concentración 16.66% del aceite de orégano la inhibición es total en mohos y levaduras y para *E. coli* y aerobios mesófilos totales es a partir de 26.53%. Se concluyó que la aplicación del gel antibacterial con aceite de orégano en manos mostró una disminución de 99.40% para aerobios mesófilos totales, 100 % para *E. coli*, y 100 % en mohos<sup>9</sup>.

También a nivel internacional citamos a Oniga I., Puscas C., Dumitrescu R., Kinga N., Sevastre B., Marica R., et al (2018), quienes publicaron un estudio “*Origanum vulgare*: Chemical Composition and Biological Studies” en la Revista Molecules, Romania, tuvo como objetivo realizar un screening fitoquímico del *Origanum vulgare* y describir sus principales compuestos fenólicos. La caracterización fitoquímica se realizó en el HPLC-MS, además, se evaluó la actividad antimicrobiana mediante la elaboración de un extracto a base de las hojas de *Origanum vulgare* mediante el método de Kirby-Bauer. Los resultados indicaron la presencia de grandes cantidades de ácidos rosmarínico y clorogénico, también flavonoides y se observó efecto antimicrobiano contra cepas de *Salmonella enteritidis* y *Aspergillus niger*. Se concluyó que *Origanum vulgare* es una especie vegetal con grandes posibilidades para la investigación y desarrollo de nuevos fármacos antimicrobianos<sup>10</sup>.

Por último, Pradebon L., Da Silva T., Freitag R. y Guerra R., (2017), publicaron un artículo “Evaluation of anti-enzyme properties of *Origanum vulgare* essential oil against oral *Candida albicans*”, el objetivo fue realizar un screening fitoquímico del *Origanum vulgare* y describir sus principales compuestos fenólicos. Para su metodología se obtuvo el aceite por hidrodestilación y se analizó en el cromatógrafo de gases y se realizó un ensayo enzimático para probar las propiedades antienzimáticas de la fosfolipasa. Se concluyó que los principales compuestos hallados en el aceite esencial del orégano fueron: terpineol, timol, terpineno y carvacrol, asimismo, el aceite esencial de orégano al 1%, 5% y 10% presentó disminuciones en la producción de la enzima fosfolipasa producida por *Candida albicans*<sup>11</sup>.

Las bases teóricas que fundamentaron el estudio se definen a continuación:

*Origanum vulgare L*, es una especie vegetal aromática conocido comúnmente como orégano, utilizado en la preparación de alimentos, en la industria cosmética y farmacéutica. De acuerdo a la clasificación taxonómica *Origanum vulgare L* pertenece a la clase Magnoliopsida, orden: Lamiales, familia: Lamiaceae, género: *Origanum* y especie: *Origanum vulgare*.<sup>12</sup>

Actualmente él orégano se encuentra distribuido a nivel mundial y su cultivo se realiza a partir de semillas (reproducción sexual) o estacas (reproducción asexual).<sup>13-15</sup>

Las características botánicas describen al *Origanum vulgare L* como una especie herbácea perenne, fuerte, con una longitud aproximadamente 60cm, sus hojas emanan su aroma característico, son pequeñas y miden de 20 a 35mm de largo, de forma aovadas, opuestas, enteras, con una punta angosta, presenta glándulas ciliadas las cuales contienen aceites esenciales. Su tallo es erguido, de color rojo, con una longitud de hasta 1 metro de altura y con muchas ramificaciones. Sus flores miden de 2 a 4 mm y presentan una coloración rosa purpura, blanca o violeta, forma inflorescencia en forma de corimbos, su corola es dividida en dos lados o labios y el labio inferior se divide en tres puntas.<sup>14</sup>

Dentro de sus propiedades terapéuticas el orégano se utiliza como: antioxidante, antibacteriano, antimicótico, antiséptico, tónico, digestivo, anticancerígeno, antiinflamatorio, emenagogo, antiespasmódico, expectorante, diurético, emoliente, vulnerario.<sup>14,16,17</sup>

La composición química de la planta de orégano destaca por presentar aceite esencial (0,1 a 1%), cuya composición es timol, beta-bisaboleno, cariofileno, p-cimeno, borneol, linalol, acetato de linafilo, alfa y beta-pinenos, alfa-terpineno, ácidos fenolcarboxílicos: caféico, clorogénico y rosmarínico, flavonoides: derivan del apigenol, luteolol, kenferol, diosmetol, taninos, triterpenos (derivados del ácido ursólico y oleanólico). Siendo los metabolitos principales encontrados en el aceite esencial: carvacrol, timol, cimeno y el terpineno.<sup>14,18,19</sup>

Los componentes carvacrol y timol son responsable de los efectos antimicrobianos de la planta, además, el carvacrol, es el fenol más activo con una concentración mínima inhibitoria (CMI) de 100 ppm.<sup>7,19</sup>

Por otro lado, los aceites esenciales son sustancias biológicas volátiles cuya estructura química base consta de carbono, oxígeno e hidrógeno y se extraen de diferentes partes de las plantas a través de varios métodos, por ejemplo:

- **Enfleurage:** la muestra se pone en contacto con un aceite vegetal que funciona como solvente extractor.
- **Extracción con solventes:** la muestra seca y molida se pone en contacto con solventes volátiles como: alcohol, éter, etc.
- **Prensado:** utiliza una prensa a una temperatura menor a 40°C, donde la muestra pasa por un tornillo y el aceite que se recoge se filtra.
- **Hidrodestilación:** la muestra vegetal se sumerge en agua en ebullición para extraer el aceite esencial.
- **Extracción por Arrastre de Vapor:** la muestra vegetal cortada en partes pequeñas, se encierra en una cámara con corriente de vapor de agua, donde la esencia es arrastrada, condensada, recolectada y separada por decantación.<sup>20-22</sup>

Los aceites esenciales se almacenan en estructuras especiales de la planta llamadas glándulas epidérmicas, células secretoras o células epidérmicas.<sup>22,23</sup>

Se caracterizan por ser líquidos con poca o nada de solubilidad en agua, pero sí en alcohol o disolventes orgánicos, son de naturaleza polar, por lo que disuelven grasas o pueden ser disueltos en ellos o absorberlos, a temperatura ambiente son incoloros, pero al oxidarse presentan un color amarillo oscuro, por lo que se recomienda colocarlos en frascos de vidrio color ámbar totalmente llenos y cerrados correctamente, presentan alto índice de refracción, la mayoría presenta menor densidad con respecto al agua entre 0,86 g/ml y 1,03 g/ml con excepción del aceite de canela y clavo de olor.<sup>24</sup>

Los aceites esenciales dentro de su composición química presentan algunos grupos como: alcoholes, aldehídos, ésteres, éteres, cetonas, fenoles y terpenos; cada uno de estos grupos poseen varios componentes, por ejemplo los terpenos donde se incluye a los monoterpenos, diterpenos, sesquiterpenos, lactonas sesquiterpénicas, etc., que destacan por ser compuestos volátiles y con propiedades bioactivas.<sup>25</sup>

Dentro de las propiedades o controles que garantizan la calidad de los aceites esenciales tenemos: determinaciones fisicoquímicas, características organolépticas, contenido de la

esencia en la planta y determinación cromatográfica. Para el estudio se realizaron los siguientes parámetros físicos:<sup>13,26,27</sup>

- Índice de Refracción: propiedad muy importante que permite conocer e indicar adulteraciones y envejecimiento de los aceites. Se determina mediante un refractómetro.
- Densidad por picnometría: se realiza con la ayuda de un instrumento llamado picnómetro, la cual mide con exactitud la densidad de los líquidos.
- Determinación de pH: se determina mediante un pH-metro.
- Solubilidad en alcohol: los aceites son solubles en etanol. Es una técnica que se usa para detectar adulteraciones por la incorporación de aceites vegetales, las cuales son inmiscibles en etanol.

Una de las vías de administración de los aceites esenciales es la vía tópica, por lo que se recomienda como vehículo en un gel o crema hidrosoluble, de esa manera se evitará alguna reacción alérgica. La piel es un órgano permeable a sustancias liposolubles y poco permeable a sustancias solubles en agua, además, puede absorber moléculas pequeñas de los aceites esenciales mediante la ruta de permeación transcelular mediante el estrato córneo, también la absorción transdérmica es rápida más aún si la piel está alterada, por lo que debemos tener en cuenta para evitar algún tipo de alergias<sup>24</sup>.

La Farmacopea Española define al gel como una forma farmacéutica semisólida, compuesta por un sistema disperso formado por una fase sólida y otra líquida. Se clasifican de acuerdo a su polaridad en geles hidrófobos o lipogeles y según su viscosidad en geles fluidos, geles sólidos y geles semisólidos.<sup>28</sup>

La composición de una base gel, presenta agentes gelificantes como el carbopol 940 y la trietanolamina, también un agente humectante como el propilenglicol, además de preservantes como el propilparabeno y el metilparabeno.<sup>29</sup>

Uno de los parámetros que se analizan para el control de calidad de los geles son los siguientes:<sup>30</sup>

- Extensibilidad: característica de los geles para que aplicados sobre la piel se distribuya uniformemente por toda la superficie.

- Aspecto y Homogeneidad: se realiza por observación directa verificando características que indiquen que el gel es transparente, con ausencia de grumos gelificados y exudados líquidos.

Por otro lado, con respecto a la acción antimicótica de las sustancias, existen diferentes métodos para determinarla como la concentración mínima inhibitoria (CMI) que se define como la concentración más baja de una sustancia antimicrobiana que impide el desarrollo y crecimiento visible de un microorganismo. La concentración se determina incubando cierta cantidad de microorganismos con diluciones establecidas del agente antimicrobiano. Los resultados según el Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (NCCLS) se interpretan como: susceptible, intermedio y resistente.<sup>31</sup>

Las pruebas de CMI generalmente utilizan el método de microdilución o macrodilución en caldo. La macrodilución en caldo se realiza para determinar la sensibilidad de los antimicrobianos y para su procedimiento se utilizan varios tubos con caldo donde se agrega la sustancia antimicrobiana en diferentes concentraciones, después se agrega la suspensión del inóculo estandarizando según la escala McFarland 0.5 y se lleva a incubación.<sup>32</sup>

Los hongos como *Candida albicans* son un tipo de microorganismo patógeno que habita en los humanos, se caracteriza por ser un hongo oportunista llegando a causar hasta infecciones sistémicas que ponen en riesgo la vida de paciente con el sistema inmunológico comprometido. Pueden vivir en presencia de oxígeno, su reproducción es asexual, presenta dimorfismo, se convierte en levadura a hifa en el momento que invade un tejido y en condiciones normales se comporta como comensal pero por diversos factores se convierte en patógeno.<sup>33</sup>

Una de las pruebas de rutina para la identificación microbiológica para *Candida albicans* es mediante el antibiograma o prueba de sensibilidad, en la cual se puede observar el crecimiento y se utilizan medios de cultivo como el agar Sabouraud u otros. Las especies de *Candida* crecen dentro de 48 a 72 horas y se observan colonias cremosas, brillantes de color blanco o crema<sup>34</sup>.

El antibiograma es uno de los métodos in vitro más importantes en microbiología, para la identificación de sensibilidad de los microorganismos a los antimicrobianos. La sensibilidad se puede medir por diferentes técnicas, siendo la Técnica de Difusión o llamada también

Kirby-Bauer uno de los métodos recomendados por el National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS).<sup>35</sup>

El método Kirby-Bauer modificado en pozos se utiliza para evaluar la sensibilidad de un microorganismo in vitro frente a una concentración determinada de una sustancia antimicrobiana que será vertida en las placas a las que se les hace los pozos con sacabocados de 6mm y de acuerdo al tamaño del halo de inhibición que se forme alrededor del disco se interpretará según la escala de Durafort, si el microorganismo frente a un antibiótico es:

- Sensible (S): indicando que la dosis del antimicrobiano puede frenar la infección producida por la cepa en estudio.
- Intermedio (I): se refiere a que las cepas presentan inhibición elevando las concentraciones del antibiótico.
- Resistente (R): las cepas no pueden ser inhibidas por el antimicrobiano.<sup>32</sup>

Es de suma importancia que los medios de cultivo que se emplean para el crecimiento de microorganismos, deben provenir de laboratorios certificados y especializados.<sup>36</sup>

El Clotrimazol es un agente imidazólico tópico sintético que inhibe la concentración de ergosterol en la membrana de los hongos. Es uno de los medicamentos más eficaces en el tratamiento tópico de los hongos.<sup>37</sup>

Del análisis de la realidad problemática se planteó la siguiente interrogante: ¿Presentará actividad antimicótica el gel formulado a base de aceite esencial de *Origanum vulgare L* (orégano) frente a *Candida albicans*?, Así como los problemas específicos:

- ¿Cuáles serán las características físicas del aceite esencial de *Origanum vulgare L* (orégano)?
- ¿Cuál será la CMI del aceite esencial de *Origanum vulgare L* (orégano) frente a *Candida albicans*?
- ¿Cuál será la calidad del gel formulado a base del aceite esencial de *Origanum vulgare L* (orégano)?
- ¿Cuál será la actividad antimicótica del gel formulado a base de aceite esencial de *Origanum vulgare L* (orégano) comparado con Clotrimazol en crema frente a *Candida albicans*?

Por lo expresado, el presente estudio justificó su investigación en el beneficio a la población ya que la mayoría no cuenta con un seguro de salud o con un nivel económico suficiente para la adquisición de medicamentos. Además, podrá disminuir los efectos adversos que producen los fármacos antimicóticos sintéticos con una alternativa natural. Por último, el presente estudio pone a disposición de la comunidad científica un nuevo conocimiento sobre el efecto antimicótico de un gel formulado con aceite esencial de orégano frente a *Candida albicans* para posteriores investigaciones.

Debe señalarse, que el objetivo general planteado fue: Demostrar la actividad antimicótica del gel formulado a base de aceite esencial de *Origanum vulgare L* (orégano) frente a *Candida albicans*, para lo cual se formularon los siguientes objetivos específicos:

- Determinar las características físicas del aceite esencial de *Origanum vulgare L* (orégano)
- Determinar la CMI del aceite esencial de *Origanum vulgare L* (orégano) frente a *Candida albicans*
- Determinar la calidad del gel formulado a base del aceite esencial de *Origanum vulgare L* (orégano)
- Comparar la actividad antimicótica del gel formulado a base de aceite esencial de *Origanum vulgare L* (orégano) con Clotrimazol en crema frente a *Candida albicans*.

La hipótesis general planteada en el estudio fue:

- H<sub>1</sub>: El gel formulado a base de aceite esencial de *Origanum vulgare L* (orégano) presenta actividad antimicótica frente a *Candida albicans*.
- H<sub>0</sub>: El gel formulado a base de aceite esencial de *Origanum vulgare L* (orégano) no presenta actividad antimicótica frente a *Candida albicans*.

## II. MÉTODO

### 2.1. Tipo y diseño de investigación

#### 2.1.1 Tipo de investigación

El estudio es de tipo cuantitativo, experimental y transversal.

Experimental, debido a la intervención e influencia sobre las variables que presentó el investigador, quien las manipula para la obtener resultados, así mismo, el estudio fue transversal, porque la recolección, identificación y análisis de las variables y su respuesta se realizaron en un solo momento.

#### 2.2.2 Diseño de investigación

El diseño de la investigación se esquematiza de la siguiente manera:

G1	X1	O1
G2	X2	O2
G3	X3	O3

G1, G2 y G3: Grupos de cepas de *Candida albicans* ATCC 10231

X1: Tratamiento con gel formulado a base de aceite esencial de *Origanum vulgare* L.

X2: Control positivo (clotrimazol)

X3: Control negativo, ausencia de tratamiento.

O1, O2 y O3: Respuesta al tratamiento

## 2.2. Operacionalización de variables

VARIABLE: Independiente	Definición conceptual	Definición Operacional	DIMENSIONES	INDICADORES	ESCALA
Gel formulado a base de un aceite esencial de <i>Origanum vulgare L</i> (orégano)	Formulación magistral elaborado con aceite esencial extraído de la planta <i>Origanum vulgare L</i> (orégano).	Determinación mediante refractómetro	Refractometría	Índice de Refracción	Ordinal
		Determinación por Picnometría	Densidad	g/cm <sup>3</sup>	Ordinal
		Determinación mediante características físicas.	Control de calidad	Aspecto, Homogeneidad Extensibilidad	Nominal
		Miscibilidad en etanol de 96° y 70°	Solubilidad en etanol	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Soluble (++)</li> <li>• Medianamente soluble (+)</li> <li>• Insoluble (-)</li> </ul>	Ordinal
		Mediante diluciones	Concentración	2.5% 5% 10% 20%	Ordinal
		Se determina mediante pH-metro	Determinación de pH.	pH	Ordinal
		Concentración mínima en la cual se produce un efecto inhibitorio del hongo por parte de la sustancia antimicótica.	CMI	Porcentaje	Ordinal
VARIABLE: Dependiente	Definición conceptual	Definición Operacional	DIMENSIONES	INDICADORES	ESCALA
Actividad antimicótica	Capacidad de una sustancia natural o artificial para inhibir el crecimiento de hongos.	Medida en mm del diámetro del halo de inhibición formado.	- Tamaño del halo de inhibición	Diámetro	Ordinal
		Escala de medida estandarizada para determinar sensibilidad antimicótica	Escala de Durafort	Nula Sensible Medio Muy sensible	Ordinal

## **2.3. Población, muestra y muestreo**

### **2.3.1 Población**

Especie vegetal *Origanum vulgare L* (orégano), la cual se recolectó del distrito de Pítipo, provincia de Ferreñafe, departamento de Lambayeque, ubicado a 6°33'50.9" de latitud Sur y 79°46'55.6" longitud Oeste.

### **2.3.2 Muestra**

Aceite esencial de *Origanum vulgare L* (orégano)

#### **Criterios de inclusión**

- Muestra vegetal frescas y sin contaminación
- Identificación taxonómica de la especie vegetal
- Cepas de *Candida albicans* ATCC 10231
- Especie vegetal perteneciente sólo al distrito de Pítipo, Ferreñafe – Lambayeque,

#### **Criterios de exclusión**

- Muestras sin identificación taxonómica
- Muestras que no corresponden al área geográfica de la población
- Cepas no ATCC

### **2.3.3 Muestreo**

De tipo No probabilístico, por conveniencia.

## **2.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos, validez y confiabilidad**

### **2.4.1 Técnicas**

- Macrodilución: método utilizado para hallar la CMI del aceite esencial de orégano frente a *Candida albicans*.
- Kirby-Bauer, técnica estandarizada para determinar el efecto antimicótico de la muestra en estudio, mediante la formación de los halos de inhibición.
- Refractometría, mide el índice de refracción del aceite esencial de orégano.
- Picnometría, permite conocer la densidad de la muestra.

### **2.4.2 Instrumentos de recolección de datos**

- Refractómetro ABBE
- Picnómetro 5 mL
- Vernier digital

- Cuadro de registro

#### **2.4.3 Validez**

Por ser un tipo de estudio experimental, la validez fue considerada en base a los métodos y técnicas estandarizadas empleadas.

#### **2.4.4 Confiabilidad**

La confiabilidad del estudio se realizó con un nivel de confianza del 95%, asimismo, los equipos utilizados fueron previamente calibrados.

### **2.5. Procedimiento**

#### **2.5.1 Recoleccion de la muestra e identificación taxonómica**

Se recolectó la muestra de la especie de *Origanum vulgare L* “orégano” del distrito de Pítipu, provincia de Ferreñafe, departamento de Lambayeque, Perú. La muestra se trasladó en estado fresco al laboratorio para la extracción del aceite esencial.

Para la identificación taxonómica se elaboró un herbario donde la muestra fue prensada y colocada cuidadosamente sobre una cartulina por 5 días, seguidamente el biólogo botánico Hamilton Beltran autorizado por el Instituto Nacional de Recursos Naturales (INRENA), emitió el certificado botánico de la planta.

#### **2.5.2 Selección y tratamiento de la planta**

De la especie vegetal *Origanum vulgare L* “orégano” se seleccionaron las hojas, se lavarón con agua corriente y luego con agua destilada para eliminar cualquier rastro de contaminación. Seguidamente se secó a temperatura ambiente en un lugar con sombra por 48 horas.

#### **2.5.3 Obtencion del aceite esencial de *Origanum vulgare L* “orégano”**

Se pesó 5000g de hojas secas de *Origanum vulgare L* “Orégano” y fueron colocadas por partes (500g) en el equipo de arrastre de vapor, luego se agregó 10 litros de agua, se selló e instaló el refrigerante con las líneas a la toma de agua.

El equipo de arrastre de vapor se colocó una cocina eléctrica y se instaló en el extremo de la salida del equipo una pera de decantación para separar el aceite del agua y se procedió a destilar por 3 horas, luego se realizó la misma operación hasta que se agote los 5000g de muestra.

#### 2.5.4 Parámetros físicos para el aceite esencial de *Origanum vulgare* “orégano”

- Índice de Refracción: se realizó en un instrumento optico llamado refractometro ABBE. En el centro del prisma del equipo se agregó 3 gotas del aceite esencial de orégano, se cerró y observó por el ocular la formación de dos campos ubicados en la parte superior en inferior, luego se giró la perilla de medición alineando para dividir y alinear el circulo que se formó en el primer campo, obteniendo el índice de refraccion que se observó en el segundo campo. (figura 4)
- Densidad: se realizó en un picnometro de 5mL. En una balanza analitica se pesó el picnometro vacio, luego enrasado con agua y por ultimo con aceite esencial de orégano, evitando siempre la formacion de burbujas y verificando que el capilar del picnometro tambien este lleno. Los resultados de los pesos fueron anotados y se realizarón los calculos para hallar la densidad del aceite esencial de orégano. (figura 6)

$$\text{Densidad relativa} = \frac{\text{Densidad del aceite}}{\text{Densidad del agua}}$$

$$\text{Densidad} = \frac{\text{masa}}{\text{volumen}}$$

- Solubilidad: se realizaron pruebas de solubilidad del aceite esencial puro con etanol de 96° y de 70°, para lo cual se realizaron mezclas 1:1 del aceite con cada alcohol. Se colocó en un tubo de ensayo 2 mL del aceite y 2 mL de cada alcohol y observó su solubilidad en estos.

#### 2.5.5 Reactivación y sembrado de la cepa de *Candida albicans* ATCC 10231

La cepa ATCC 10231 liofilizada se retiró del envase que la contenía y se mezcló con la ampolla para su reconstitución, luego se embebió un hisopo estéril con la cepa reconstituida y se sembró frotando suavemente en estrías en toda la placa con agar Sabouraud Dextrosa, se llevó a incubación por 24 horas. Todo el procedimiento fue llevado de acuerdo a los protocolos de bioseguridad.

### 2.5.6 Determinacion de la Concentracion Minima Inhibitoria (CMI)

Se preparó el aceite esencial de orégano diluido en alcohol de 96% y se obtuvieron las siguientes concentraciones del 2,5%, 5%, 10%, 15% y 20% para realizar la concentración mínima inhibitoria.

Se prepararon 8 tubos a los que se les agregó a cada uno 1 mL de medio del inoculo con *Candida albicans*, al primer tubo se le agregó 1 mL de etanol al 96% y sirvió como control del diluyente, al segundo tubo se le adicionó 1 mL de aceite de orégano puro, al tercer tubo 1 mL de aceite esencial de orégano al 20%, al cuarto tubo 1 mL de aceite esencial de orégano al 15%, al quinto tubo 1 mL de aceite esencial de orégano al 10%, al sexto tubo 1 mL de aceite esencial de orégano al 5% y los tubos número 7 y 8 sirvieron como control de esterilidad del caldo TSB. Se incubó a 35°C por 24 horas.

### 2.5.7 Elaboracion de gel formulado a base de aceite esencial de *Origanum vulgare* “orégano”<sup>38</sup>

Para su elaboración, primero se elaboró la base gel, por lo que se pesó el carbómero 940 y se incorporó en el agua purificada, se mezcló con la espatula sin revolver hasta que desaparecieron los grumos grandes que se formaron. Para mejorar el proceso se llevó por 2 horas a un agitador.

Se midió propilenglicol y se agregó a la mezcla con carbómero, después de 20 minutos se adicionó la solución concentrada de hidroxibenzoatos, siguió en agitación por 30 minutos más y finalmente se agregó el resto de agua y la trietanolamina hasta que se logró la gelificación del gel. Se envasó, rotuló y se llevó a refrigeración.

Para preparar el gel a base de aceite esencial, se pesó la cantidad necesaria de aceite esencial de orégano y se completó con la base gel, seguidamente se mezcló con una espatula para uniformizar el gel. No hubo necesidad de agregar más trietanolamina.

Fórmula:

Carbómero (940).....1g

Propilenglicol .....5g

Agua.....csp. 100g

Trietanolamina .....csp. pH 6 – 6.5

### **2.5.8 Ensayos para el control de calidad de los geles:**

Para analizar el aspecto y la homogeneidad del gel terminado, se tomó una muestra y se colocó sobre una placa de vidrio y se realizó una extensión y se llevó la placa de vidrio encima de una superficie negra para visualizar con una lupa características como transparencia, ausencia de agentes gelificados y restos líquidos.

Para determinar la extensibilidad que presenta el gel, se pesó 2g de gel terminado y se presionó entre dos superficies de vidrio; se agregó un peso de 2kg por 3 minutos. Se calcula el radio promedio y se halla el área de extensibilidad con una fórmula:  $A = \pi * r^2$

### **2.5.9 Evaluación de la actividad antimicótica**

Se utilizaron sacabocados de 6mm de diámetro para realizar los pozos dentro de las placas sembradas con *Candida albicans*, seguidamente con una micropipeta se vertió 15 µL del gel formulado con aceite esencial de orégano.

Se realizaron 4 pozos por cada placa: 01 control negativo que fue el etanol al 96%, un control positivo que fue Clotrimazol, un disco al 2.5% y el otro al 5%, se realizaron 30 repeticiones de cada uno.

Las placas fueron llevadas a incubación de 37°C por 24 horas, finalmente se determinó la actividad antimicótica mediante la lectura de los halos de inhibición que se tomaron con el vernier digital. Los datos fueron colocados en el registro de datos.

## **2.6. Método de Análisis de datos**

Los datos que se obtuvieron se analizaron mediante un programa estadístico llamado SPSS versión 26, el cual ayudó a determinar la estadística descriptiva de cada variable, a su vez se realizaron pruebas de normalidad y pruebas de homogeneidad de varianzas y posteriormente las pruebas inferenciales mediante ANOVA y Tukey. Para cada caso se empleó un nivel de significancia de 0.05.

## **2.7. Aspectos éticos**

- El presente estudio respetó el código de ética del Colegio Médico del Perú, capítulo 6, artículo 48°, donde destaca la importancia de la veracidad de los resultados que se obtiene en el estudio.<sup>39</sup>

- Además, se aplicaron los principios de bioseguridad para el personal que realizó el trabajo microbiológico, así como también fueron eliminados de forma correcta los desechos con el fin de evitar daños al medio ambiente.<sup>40</sup>

### III. RESULTADOS

El estudio obtuvo el aceite esencial de *Origanum vulgare L* (orégano) al que se le determinó sus características físicas para determinar su calidad, así mismo, se obtuvo su CMI frente a *Candida albicans* y posteriormente se elaboró con en gel al 5% y 2.5% observando su efecto antimicótico comparado con clotrimazol.

Tabla 1. Las características físicas del aceite esencial de *Origanum vulgare L* (orégano)

<i>Parámetro</i>	<i>Resultado</i>
<i>Índice de refracción</i>	1,471
<i>Densidad</i>	0,919
<i>Solubilidad etanol 96°</i>	++
<i>Solubilidad etanol 70°</i>	+

Fuente: Elaboración propia

- Soluble (++)
- Medianamente soluble (+)
- Insoluble (-)

La tabla 1 se muestra las características físicas como índice de refracción, densidad y solubilidad en etanol de 96° y 70°, se observa que el aceite es soluble en etanol de 96° pero medianamente soluble en el de 70°.

Tabla 2. Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del aceite esencial de *Origanum vulgare L* (orégano) frente a *Candida albicans*

<i>MUESTRA</i>	<i>20%</i>	<i>10%</i>	<i>5%</i>	<i>2.5%</i>	<i>CI</i>	<i>CE</i>	<i>CN</i>
<i>1</i>	-	-	-	-	+	-	+
<i>2</i>	-	-	-	-	+	-	+
<i>3</i>	-	-	-	-	+	-	+

Fuente: Elaboración propia

CI: Control del inóculo:  $1.5 \times 10^8$  UFC/ml

CE: Control de Esterilidad < 1 UFC/ml

CN: Control negativo (etanol 96°)

+: Presencia

-: Ausente

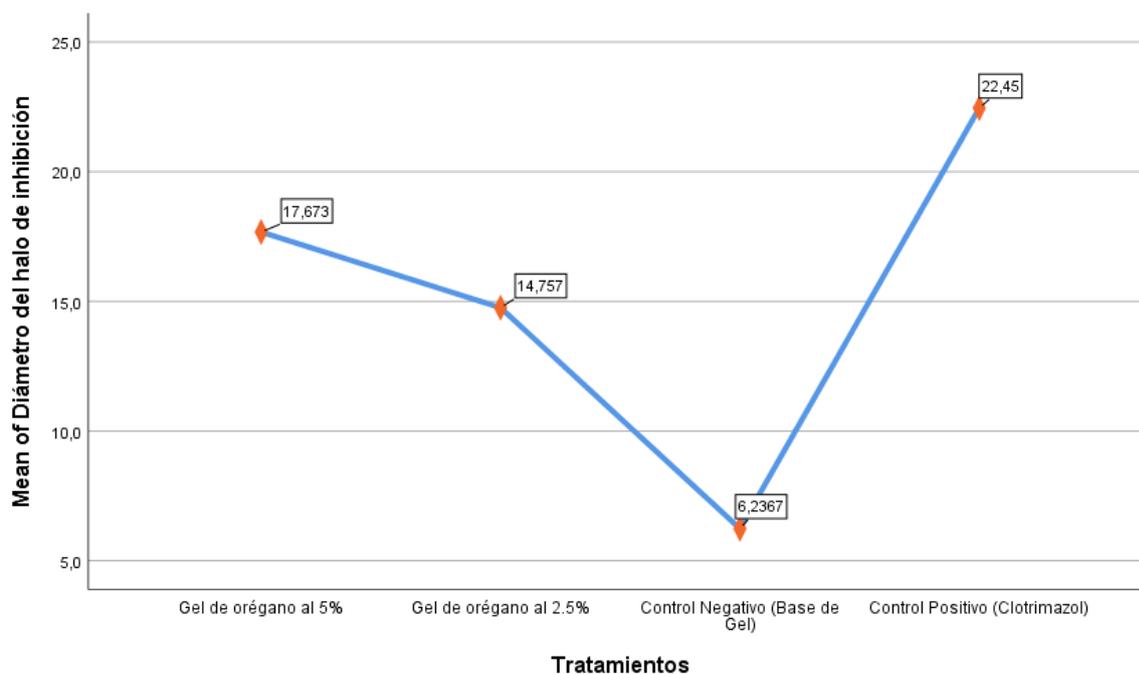
La tabla 2 muestra los resultados del análisis de la concentración mínima inhibitoria (CMI) para el aceite de orégano a las concentraciones del 20%, 10%, 5% y 2.5% disueltas en etanol de 96°, así mismo, se observa los resultados del control negativo (etanol 96°), control positivo

Tabla 3. Calidad del gel formulado a base del aceite esencial de *Origanum vulgare L* (orégano)

PARÁMETRO	RESULTADO
ASPECTO	Uniforme
HOMOGENEIDAD	Homogéneo
EXTENSIBILIDAD	23900mm <sup>2</sup>
PH	6,5

Fuente: Elaboración propia

Figura 1. Gráfico de los promedios de los halos de inhibición antimicótica del gel formulado a base de aceite esencial de *Origanum vulgare L* (orégano) y Clotrimazol en crema frente a *Candida albicans*.



Fuente: Elaboración propia

La figura 1 muestra de manera gráfica los resultados obtenidos del promedio del halo de inhibición formados por los tratamientos del gel de orégano al 5% y 2.5%, así como los grupos control sobre *Candida albicans*, se observa halos de 17,7mm y 14,7mm para el gel de orégano al 5% y 2.5% respectivamente, no se observó efecto en el control negativo (gel base) y el control positivo (clotrimazol cr.) obtuvo un halo de inhibición promedio de 22,5mm.

***Actividad antimicótica del gel de aceite esencial de Origanum vulgares L (orégano)***

Contrastación de la hipótesis:

H<sub>0</sub>: Los grupos analizados son iguales. Para un p – valor > 0.05

H<sub>1</sub>: Al menos uno de los grupos analizados es diferente. Para un p – valor < 0.05

*Tabla 4. Análisis de la varianza (ANOVA) de los tratamientos y grupo control de Origanum vulgare L (orégano) y Clotrimazol en crema frente a Candida albicans.*

**ANOVA**

Diámetro del halo de inhibición

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	p-valor
Between Groups	4175,781	3	1391,927	12404,051	0,000
Within Groups	13,017	116	0,112		
Total	4188,798	119			

Fuente: SPSS versión 26

Análisis: El p-valor de la prueba 0,00 es superior al nivel de significancia alfa de la investigación (0.0), por lo tanto, se rechaza la hipótesis nula y acepta la hipótesis alterna.

Decisión: Al menos uno de los grupos analizados es diferente.

La tabla 4 muestra el análisis de ANOVA realizado al grupo de datos del estudio mediante la cual se demuestra que los grupos no son iguales y existe diferencia estadísticamente significativa en las medias de los grupos analizados, lo que nos indica que los grupos demuestran diferencias en cuanto a su efecto antimicótico sobre *Candida albicans*.

Tabla 5. Prueba Post Hoc – Tukey por comparación múltiple

Multiple Comparisons						
Dependent Variable: Diámetro del halo de inhibición						
Tukey HSD						
(I) Tratamientos	(J) Tratamientos	Mean Difference (I-J)	Std. Error	p-valor	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Gel de orégano al 5%	Gel de orégano al 2.5%	2,9167*	0,0865	0,000	2,691	3,142
	Control Positivo (Clotrimazol)	-4,7767*	0,0865	0,000	-5,002	-4,551
Gel de orégano al 2.5%	Gel de orégano al 5%	-2,9167*	0,0865	0,000	-3,142	-2,691
	Control Positivo (Clotrimazol)	-7,6933*	0,0865	0,000	-7,919	-7,468
Control Positivo (Clotrimazol)	Gel de orégano al 5%	4,7767*	0,0865	0,000	4,551	5,002
	Gel de orégano al 2.5%	7,6933*	0,0865	0,000	7,468	7,919

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

La tabla 5 muestra el análisis de la prueba Post Hoc mediante Tukey para comparaciones múltiples, esta prueba muestra valores p menor que el nivel de significancia del estudio, por lo tanto, se rechaza la hipótesis nula y acepta la hipótesis alterna que nos indica que existe diferencia significativa entre los grupos analizados por pares.

Tabla 6. Análisis por subgrupos homogéneos - Tukey

Diámetro del halo de inhibición					
Tukey HSD <sup>a</sup>					
Tratamientos	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
Control Negativo (Base de Gel)	30	6,237			
Gel de orégano al 2.5%	30		14,757		
Gel de orégano al 5%	30			17,673	
Control Positivo (Clotrimazol)	30				22,450
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 30,000.

La tabla 6 muestra la Prueba de Tukey y por subgrupos homogéneos la cual nos permite determinar las diferencias significativas de todos los subgrupos y determinar cuál de ellos presentan mayor o menor efecto antimicótico sobre *Candida albicans*, se observa efecto antimicótico creciente según la concentración de los geles de orégano comparado con el control negativo, sin embargo, ningún gel de orégano demostró tener igual o similar efecto que el clotrimazol sobre *Candida albicans*.

#### IV. DISCUSIÓN

El orégano es una planta muy empleada en la industria de la alimentación, sin embargo, ha demostrado tener muchas propiedades medicinales, el aceite esencial de esta planta ha presentado propiedades antibacterianas y antimicóticas en diversos estudios, por tal motivo, se ha realizado la formulación de un gel a base del aceite esencial de esta planta y se comparó con una crema dermatológica con reconocido efecto antimicótico sobre *Candida albicans*.

En primer lugar, se obtuvo el aceite esencial de la planta y analizaron sus propiedades físicas del mismo, como índice de refracción, densidad y solubilidad en etanol, las cuales se encontraron dentro de los rangos establecidos para este tipo de aceite y se muestran en la tabla 1.

Del mismo modo, se determinó la concentración mínima inhibitoria (CMI) mediante la cual se puede obtener la concentración a la cual el aceite muestra aun un efecto antimicótico sobre *Candida albicans*, dicho resultados nos sirvieron para preparar las concentraciones a las cuales el gel de orégano presentaría efecto antimicótico, se encontró que el aceite presentó una CMI al 2.5% del aceite, tomándose en consideración para la elaboración del gel esta concentración y la del 5%, dichos resultados se muestran en la tabla 2.

Estudios que demuestran también el efecto antibacteriano del aceite esencial de *Origanum vulgare* fue el realizado por Francisca R. (2019) sobre *Salmonella typhi* empleando el método de Kirby Bauer, encontrando una CMI y una CMB del 5% del aceite de orégano para la bacteria en mención, así mismo, el estudio de Colpa M. (2016) obtuvieron los mismos resultados con respecto al efecto inhibitor del aceite esencial de orégano frente a cepas de *Candida albicans* empleando el método de difusión en pozo.

Villavicencio J., Moromi H., Salcedo D., Pineda M., Ramos D., Zambrano L., et al (2016) evaluaron el efecto del aceite de orégano al 12.5% demostrando un gran efecto antimicótico del aceite a esta concentración sobre *Candida albicans*.

Por otro lado, el estudio realizado por Moreno P., Ronquillo B., (2018), evaluaron el efecto inhibitorio del crecimiento de tres cultivos (*E. coli*, Aerobios Mesófilos Totales y Mohos) al aplicar un gel antibacterial formulado a base de aceite esencial de orégano (*Origanum Vulgare*) y proteína de suero de leche aislada, el estudio demostró que la efectividad el aceite de orégano se alcanza a un concentración del 16.66% con respecto a los mohos y levaduras,

sin embargo, la concentración las cepas de *Escherichia coli* mostraron sensibilidad al aceite a partir de una concentración del 26.53%.

Mediante la tabla 3 se muestran los parámetros de calidad del gel de orégano elaborado demostrando uniformidad en su aspecto, homogeneidad en su constitución, una extensibilidad de 23900mm<sup>2</sup> a la presión y un pH de 6.5, los parámetros obtenidos también se encontraron dentro de los rangos permitidos, por lo tanto, se obtuvo un buen producto con las características como producto farmacéutico.

La actividad antimicótica del gel se observa en la figura 1, donde podemos apreciar halos de inhibición producidos de 17,7mm y 14,7mm para las concentraciones del 5% y 2,5%, el control negativo constituido por la base de gel empleada mostro halos de inhibición de 6,2mm que es lo que se considera por el diámetro del pozo y el control positivo a base de una crema de clotrimazol en crema obtuvo un halo de inhibición promedio de 22,5mm, por lo tanto, estas dos presentaciones del gel muestran aparentemente no tener la misma efectividad que el clotrimazol en crema, pero si tienen efectividad antimicótica en dicha formulación contra *Candida albicans*.

La actividad antimicótica del gel de orégano se analizó mediante el método de difusión en pozo, se realizaron 30 repeticiones para cada tratamiento del gel de orégano al 5% y 2.5%, así mismo, para los controles positivo y negativo, los datos obtenidos fueron analizados mediante la prueba estadística de ANOVA mostrada en la tabla 4 para determinar diferencia significativa entre los grupos de datos, dicho análisis mostró diferencia significativa entre los grupos analizados con un p-valor del 0,00, superior al nivel de significancia del estudio de 0,05.

Del mismo modo, se determinó la diferencia de las medias de cada grupo de datos mediante la prueba Post Hoc de Tukey por comparaciones múltiples y sub grupos homogéneos, dicha prueba nos demostró que existe diferencia significativa en todos los grupos de datos con un nivel de significancia alfa de 0.05 y del mismo modo, se logró demostrar que el clotrimazol en crema presenta mayor eficacia antimicótica in vitro sobre *Candida albicans* que los geles formulados a base de aceite de orégano.

## V. CONCLUSIONES

1. Se determinaron las características físicas del orégano como el índice de refracción (1,471), densidad (0,919), también presentó ser soluble en etanol de 96° y medianamente soluble en etanol de 70°.
2. La CMI obtenida del aceite esencial de *Origanum vulgare L* (orégano) frente a *Candida albicans* fue del 2.5%
3. Con respecto a la calidad del gel de orégano se obtuvo un aspecto uniforme, homogéneo, una extensibilidad de 23900mm<sup>2</sup> y un pH de 6,5.
4. El gel formulado a base de aceite esencial de *Origanum vulgare L* (orégano) presento menor efecto antimicótico contra *Candida albicans* que el Clotrimazol en crema.

## **VI. RECOMENDACIONES**

1. Se recomienda para futuras investigaciones realizar estudios comparativos con otras formulaciones antimicóticas a concentraciones mayores para determinar su eficacia.
2. Se recomienda incluir en formularios magistrales preparaciones farmacéuticas a base de plantas medicinales que hayan demostrado su eficacia medicinal.
3. De la misma manera, se recomienda a las instituciones de salud promover las formulaciones magistrales como tratamiento complementario para combatir las enfermedades.
4. Se recomienda a la población el uso de plantas medicinales y su preparaciones magistrales como alternativas inocuas y de menor riesgo para el tratamiento de enfermedades sobre todo de la piel.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Biasoli M. Candidiasis [Internet]. 2016. Disponible en: [https://www.fbioyf.unr.edu.ar/evirtual/file.php/118/materiales\\_2013/teoricos\\_2013/candidiasis\\_2013-1.pdf](https://www.fbioyf.unr.edu.ar/evirtual/file.php/118/materiales_2013/teoricos_2013/candidiasis_2013-1.pdf)
2. Zurita J. Infecciones micóticas: esas enfermedades relegadas de la salud pública. *Bionatura*. 2017;2(3):344-7.
3. Santolaya ME, Alvarado Matute T, de Queiroz Telles F, Colombo AL, Zurita J, Tiraboschi IN, et al. Recomendaciones para el manejo de la candidemia en neonatos en América Latina. *Rev Iberoam Micol*. 2016;30(3):158-70.
4. Villanueva F., Veliz J., Canasa K. et al. Características de las fungemias en un centro de referencia del Perú: Análisis retrospectivo de cinco años. *Rev Peru Med Exp Salud Publica*. 2020;37(2):276-81.
5. Mestanza K. y Vásquez E. Efecto inhibitorio In Vitro del extracto acuoso de *Allium sativum* L. (ajo) Frente a cepas de *Candida albicans* resistente a la nistatina obtenidas del Hospital Regional Docente las Mercedes. Lambayeque. marzo – Setiembre 2017. Universidad Nacional Pedro Ruíz Gallo. 2017.
6. F. R. Antibacteriano in vitro del aceite esencial de *Origanum vulgare* (oregano) sobre *Salmonella typhi*". 2019.
7. Colpa M. Efecto inhibidor del aceite esencial de *Origanum vulgare* (Orégano) y *Mentha piperita* (menta) frente a cepas de *Cándida albicans*. Estudio in vitro. Lima 2016. Universidad Privada Norbert Wiener. 2016.
8. Villavicencio J. et al. Efecto Antimicótico in vitro de *Origanum vulgare* sobre cepas de *Candida albicans*. *Odontol Sanmarquina*. 29 de enero de 2016;19(2):5.
9. Moreno P. y Ronquillo B. Evaluación de la inhibición del crecimiento de tres cultivos bacterianos mediante la aplicación de un gel antibacterial formulado a base de aceite esencial de orégano (*organum vulgare*) y proteína de suero de leche aislada. 2018. 2018.
10. Oniga I, Pus C, Silaghi-Dumitrescu R, Olah NK, Sevastre B, Marica R, et al.

- Origanum vulgare ssp. vulgare: Chemical composition and biological studies. *Molecules*. 2018;23(8).
11. Pradebon L. et al. Evaluation of anti-enzyme properties of Origanum vulgare essential oil against oral *Candida albicans* - ScienceDirect [Internet]. *Journal de Mycologie Médicale*. 2017 [citado 31 de diciembre de 2020]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1156523317303414>
  12. Universidad de Malaga. Origanum vulgare [Internet]. *Green Globe Sostenibilidad y Proyectos Ambientales*. 2018 [citado 30 de diciembre de 2020]. Disponible en: <http://www.jardinbotanico.uma.es/bbdd/index.php/jb-ar11-02/>
  13. Kuklinski C. *Farmacognosia: «Estudios de las Drogas y Sustancias Medicamentosas de Origen Natural»*. Barcelona - España: Ediciones Omega S.A.; 2010. 400 p.
  14. Fonnegra R. y Jimenez S. *Plantas medicinales aprobadas en Colombia* [Internet]. Google Libros; 2007 [citado 28 de diciembre de 2020]. Disponible en: <https://books.google.com.pe/books?id=K8eI-7ZeFpsC&pg=PA76&dq=Cinnamomum+zeylanicum&hl=es-419&sa=X&ved=2ahUKEwjmxffZw-XqAhVgK7kGHfvuCBE4ChDoATAEegQIBBAC#v=onepage&q=Cinnamomum+zeylanicum&f=false>
  15. León B, Roque J, Ulloa C, Pitman Ni. El libro rojo de las plantas endémicas del Perú. *Rev Peru Biol*. 2010;13(2).
  16. Basurto M., Quintero A. et al. Extracción de aceite esencial de Origanum vulgare y determinación del efecto antibacteriano sobre *Escherichia coli*. *Mundo Recursivo*. 2019;2(9):15.
  17. Han X. y Parker T. Anti-inflammatory, tissue remodeling, immunomodulatory, and anticancer activities of oregano (*Origanum vulgare*) essential oil in a human skin disease model. *Biochim Open* [Internet]. 2017;4:73-7. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biopen.2017.02.005>
  18. Tellez L, Nolzco D. Estudio de la composición química del aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare* spp.) de Tacna Lena. *Ing Ind* [Internet]. 2017;35:195-

205. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/3374/337453922010.pdf>
19. Bedoya C. et al. Antifungal activity of nanoemulsions encapsulating oregano (*Origanum vulgare*) essential oil: in vitro study and application in Minas Padrão cheese. *Brazilian J Microbiol* [Internet]. 1 de octubre de 2018 [citado 4 de enero de 2021];49(4):929-35. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2018.05.004>
  20. Martínez A. Aceites Esenciales. Div Publicaciones UIS. 2016;180.
  21. Peredo-Luna H, Palou-García E, López-Malo A. Aceites esenciales: métodos de extracción. *Temas Sel Ing Aliment*. 2016;3(1):8.
  22. Véliz M. y Gonzales Y. Evaluación Técnico-Económica Para La Obtención De Aceites Esenciales Y Su Impacto En El Medioambiente. *Cienc en su PC*. 2017;(4):103-15.
  23. Sanchez M. Los Aceites Esenciales: La Perfecta Medicina De La Naturaleza. [Internet]. Google Libros. 2016 [citado 8 de enero de 2021]. Disponible en: [https://books.google.com.pe/books?id=bFPyCwAAQBAJ&printsec=frontcover&dq=aceites+esenciales&hl=es-419&sa=X&ved=2ahUKEwiv3Nez6Y3uAhUDG7kGHWGaC844ChDoATAEegQIBhAC#v=onepage&q=aceites esenciales&f=false](https://books.google.com.pe/books?id=bFPyCwAAQBAJ&printsec=frontcover&dq=aceites+esenciales&hl=es-419&sa=X&ved=2ahUKEwiv3Nez6Y3uAhUDG7kGHWGaC844ChDoATAEegQIBhAC#v=onepage&q=aceites%20esenciales&f=false)
  24. Requejo A. Aceites esenciales en sinergia [Internet]. Google Libros. 2020 [citado 28 de noviembre de 2020]. Disponible en: [https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=YNruDwAAQBAJ&oi=fnd&pg=PT5&dq=aceites+esenciales&ots=WvRSbAxQI9&sig=px3F7gqEtbow90wOYKg37d6dKK8#v=onepage&q=aceites esenciales&f=false](https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=YNruDwAAQBAJ&oi=fnd&pg=PT5&dq=aceites+esenciales&ots=WvRSbAxQI9&sig=px3F7gqEtbow90wOYKg37d6dKK8#v=onepage&q=aceites%20esenciales&f=false)
  25. Kačániová M, Vukovič N, Hleba L, Bobková A, Pavelková A, Rovná K. Antimicrobial and Antiradicals Activity of *Origanum Vulgare* L. and *Thymus Vulgaris* Essential Oils. *J Microbiol Biotechnol Food Sci*. 2020;9(5):263-71.
  26. Montoya G. Una Alternativa de Diversificación para el Eje Cafetero. *Univ Nac Colomb* [Internet]. 2010;1:12-174. Disponible en: <http://bdigital.unal.edu.co/50956/7/9588280264.pdf>
  27. Chévez Chévez H de la C, Coronado Velasquez AF, Espinoza Sauzo LR.

- Determinación y comparación de propiedades físico-químicas de dos aceites de pino (*Pinus oocarpa schiede*) extraídos mediante la técnica de Soxhlet y Clevenger [Internet]. 2017. Disponible en: [http://docs.bvsalud.org/biblioref/2018/02/879803/determinacion-y-comparacion-de-propiedades-fisico-quimicas-de-d\\_splKQjL.pdf](http://docs.bvsalud.org/biblioref/2018/02/879803/determinacion-y-comparacion-de-propiedades-fisico-quimicas-de-d_splKQjL.pdf)
28. Farmacéuticos R e IC de. Procedimiento de elaboración de geles. :1-10. Disponible en: <http://profesionales.farmaceuticosdesevilla.es/opencms/export/sites/default/Proyecto/proyecto/RICOFS/FormulacionMagistral/PN-L-PE-GELES.pdf>
  29. Méndez Lema EE. “Elaboración, Control De Calidad Y Evaluación “in Vivo” De La Actividad Antibacteriana De Un Gel Obtenido Del Extracto Alcaloidal Del Chocho. Esc Super Politécnica Chimborazo Fac Ciencias. 2008;1-86.
  30. E. F. Fórmulas dermatológicas. Farm Prof. 2018;17.
  31. Coyle M, Cavalieri SJ, Rankin ID, Harbeck RJ, Sautter RL. Manual de Pruebas de Susceptibilidad Antimicrobiana [Internet]. 2016. 248 p. Disponible en: <https://www.paho.org/hq/dmdocuments/2005/susceptibilidad-antimicrobiana-manual-pruebas-2005.pdf>
  32. Sacaquispe R. Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión [Internet]. Vol. 32, Serie de Normas Técnicas N° 30. 2002. 67 p. Disponible en: <http://docplayer.net/1923603-Clinical-and-laboratory-standards-institute-advancing-quality-in-health-care-testing.html>
  33. Cruz S., Diaz P. et al. Genoma de *Candida albicans* y resistencia a las drogas. Red Rev Científicas América Lat el Caribe, España y Port. 2017;33(3):26.
  34. Pinilla G. y et al. Herramientas para el análisis de mecanismos de resistencia de *Candida albicans*. Enfermedades Infecc y Microbiol. 2018;38(3):julio-septiembre.
  35. Picazo J. Procedimientos en Microbiología Clínica. Who [Internet]. 2015; Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2017/bacteria-antibiotics-needed/es/>
  36. Murray P., Rosenthal K y PFM. Microbiología médica [Internet]. Google Libros.

2016 [citado 9 de enero de 2021]. Disponible en:  
[https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=GOaVDgAAQBAJ&oi=fnd&pg=PP1&dq=medios+de+cultivo+microbiol%C3%B3gico&ots=hRiSHMJWol&sig=Q\\_hlut3UZJnoJKJ\\_NQR4FNIVcU4#v=onepage&q=medios+de+cultivo+microbiol%C3%B3gico&f=false](https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=GOaVDgAAQBAJ&oi=fnd&pg=PP1&dq=medios+de+cultivo+microbiol%C3%B3gico&ots=hRiSHMJWol&sig=Q_hlut3UZJnoJKJ_NQR4FNIVcU4#v=onepage&q=medios+de+cultivo+microbiol%C3%B3gico&f=false)

37. Jiménez L. Eficacia del tratamiento de otomicosis. comparación entre antimicóticos tópicos: Clotrimazol vs Tolnaftato. ensayo clínico controlado aleatorizado. 2018.
38. Ministerio de Sanidad Consumo y Bienestar Social E. Formulario Nacional Español. Ley 29/2006 España; 2019 p. 335-6.
39. Colegio Médico del Perú. Código de Ética y Deontología. Colegio Médico del Perú. 2007;16-7.
40. MINSA/DIGESA. Norma Técnica de Salud : " Gestión y Manejo de Residuos Sólidos en Establecimientos de Salud y Servicios Médicos de Apoyo a nivel Nacional ". Norma Tec Salud N° N° 096- MINSA/DIGESA-V01. 2010;1:63.

## **ANEXOS**

### Anexo 1. Matriz de consistencia

PROBLEMA GENERAL	OBJETIVO GENERAL	HIPÓTESIS GENERAL	VARIABLES Y DIMENSIONES		METODOLOGÍA
¿Presentará actividad antimicótica el gel formulado a base de aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> (orégano) frente a <i>Candida albicans</i> ?	Demostrar la actividad antimicótica del gel formulado a base de aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> (orégano) frente a <i>Candida albicans</i> .	<p><b>H<sub>1</sub>:</b> El gel formulado a base de aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> (orégano) presenta actividad antimicótica frente a <i>Candida albicans</i>.</p> <p><b>H<sub>0</sub>:</b> El gel formulado a base de aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> (orégano) no presenta actividad antimicótica frente a <i>Candida albicans</i>.</p>	<p><b>VARIABLE INDEPENDIENTE</b></p> <p>- Gel formulado a base de un aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> (orégano).</p> <p><b>DIMENSIONES</b></p> <p>- Índice de Refracción - Densidad - Aspecto y Homogeneidad - Extensibilidad - Determinación de pH.</p>	<p><b>VARIABLE DEPENDIENTE</b></p> <p>- Actividad antimicótica</p> <p><b>DIMENSIONES</b></p> <p>- Tamaño del halo de inhibición - Escala de Durafort - CMI</p>	<p><b>Diseño de la investigación:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Experimental</li> </ul> <p><b>Población:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Origanum vulgare</i> (orégano)</li> </ul> <p><b>Muestra:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Gel de aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> (orégano)</li> <li>• Clotrimazol 1% Crema</li> </ul> <p><b>Técnicas de recopilación de información:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Observacional – prospectiva</li> </ul> <p><b>Técnicas de procesamiento de información:</b></p>
<b>PROBLEMAS ESPECÍFICOS</b>	<b>OBJETIVOS ESPECÍFICOS</b>	<b>HIPÓTESIS ESPECÍFICAS</b>			

<p>1. ¿Cuáles serán las características físicas del aceite esencial de <i>Origanum vulgare L</i> (orégano)?</p> <p>2. ¿Cuál será la CMI del aceite esencial de <i>Origanum vulgare L</i> (orégano) frente a <i>Candida albicans</i>?</p> <p>3. ¿Cuál será la calidad del gel formulado a base del aceite esencial de <i>Origanum vulgare L</i> (orégano)?</p> <p>4. ¿Cuál será la actividad antimicótica del gel formulado a base de aceite esencial de <i>Origanum vulgare L</i> (orégano) comparado con Clotrimazol en crema frente a <i>Candida albicans</i>?</p>	<p>1. Determinar las características físicas del aceite esencial de <i>Origanum vulgare L</i> (orégano)</p> <p>2. Determinar la CMI del aceite esencial de <i>Origanum vulgare L</i> (orégano) frente a <i>Candida albicans</i></p> <p>3. Determinar la calidad del gel formulado a base del aceite esencial de <i>Origanum vulgare L</i> (orégano)</p> <p>4. Comparar la actividad antimicótica del gel formulado a base de aceite esencial de <i>Origanum vulgare L</i> (orégano) con Clotrimazol en crema frente a <i>Candida albicans</i>.</p>	<p>1. El gel formulado a base de aceite esencial de <i>Origanum vulgare L</i> presenta características físicas como solubilidad, índice de refracción y densidad.</p> <p>2. La CMI del aceite esencial de <i>Origanum vulgare L</i> (orégano) frente a <i>Candida albicans</i> es del 2,5%</p> <p>3. El gel formulado a base del aceite esencial de <i>Origanum vulgare L</i> (orégano) presenta parámetros de calidad aceptables.</p> <p>4. El gel formulado a base de aceite esencial de <i>O. vulgare L</i> (orégano) presenta actividad antimicótica similar al Clotrimazol en crema frente a <i>Candida albicans</i>.</p>			<ul style="list-style-type: none"> <li>• Se realizarán pruebas de estadística descriptiva y pruebas de hipótesis inferencial empleando el análisis de ANOVA y prueba de Tukey</li> </ul> <p><b>Instrumentos de recolección de datos:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Vernier digital</li> <li>• PH-metro</li> <li>• Picnómetro</li> <li>• Refractómetro</li> <li>• Balanza analítica</li> <li>• Cuadro de registro</li> </ul>
--	--	--	--	--	--

## Anexo 2. Certificado taxonómico de la especie vegetal

Hamilton W. Beltrán S.  
Consultor Botánico  
Calle Natalio Sánchez 251- Jesús María  
hamiltonbeltran@yahoo.com

### CERTIFICACION BOTANICA

El Biólogo colegiado y autorizado por el Inrena según RD. N° 334-2013-MINAGRI-DGFFS/DGEFFS, con Registro N° 37, certifica que la planta conocida como "ORÉGANO" proporcionada por las Srtas. ROSA ELENA DEZA CALLE y GAVI DEL ROSARIO BUSTAMANTE VILLAFANA; Tesistas la Universidad Privada de Huancayo Franklin Roosevelt, ha sido estudiada científicamente y determinada como Origanum vulgare y de acuerdo al Sistema de Clasificación de Cronquist 1981, se ubica en las siguientes categorías:

Reino: PLANTAE  
División: MAGNOLIOPHYTA  
Clase: MAGNOLIOPSIDA  
Subclase: ASTERIDAE  
Orden: LAMIALES  
Familia: LAMIACEAE  
Género: Origanum  
Especie: Origanum vulgare L

Se expide la presente certificación a solicitud de las interesadas para los fines que estime conveniente.

Lima, 30 Enero 2021

  
Blgo. Hamilton Beltrán  
Hamilton W. Beltrán Santiago  
Biólogo - Botánico  
C.R.P. 2719

### Anexo 3. Efecto antimicótico del gel de orégano

Placa	Diámetro del halo de inhibición (mm) <i>Candida albicans</i>			
	Control Negativo	Control Positivo	Gel 5%	Gel 2.5%
1	6,0	23,2	16,9	14,7
2	6,5	22,3	17,6	14,4
3	6,6	22,2	17,9	15,1
4	6,3	22,7	17,2	15,3
5	6,2	21,8	18,3	14,0
6	6,1	22,6	17,9	14,7
7	6,2	22,0	17,1	14,9
8	6,1	22,4	18,1	14,5
9	6,3	21,9	17,6	15,1
10	6,0	22,6	17,4	14,9
11	6,4	23,0	17,7	14,8
12	6,2	23,3	17,7	14,7
13	6,1	22,0	17,3	14,2
14	6,6	23,1	18,2	15,1
15	6,0	22,4	17,5	14,9
16	6,2	22,1	17,5	14,9
17	6,1	22,1	17,7	15,3
18	6,3	22,1	18,3	14,7
19	6,1	22,8	17,5	15,0
20	6,2	22,7	17,6	14,4
21	6,1	22,5	17,9	14,7
22	6,4	22,1	17,8	14,7
23	6,4	22,4	17,9	15,0
24	6,0	22,4	17,7	14,2
25	6,1	22,5	17,7	15,3
26	6,0	22,5	17,5	14,2
27	6,6	22,4	17,1	15,2
28	6,2	22,6	17,8	15,1
29	6,3	22,6	17,7	13,9
30	6,5	22,2	18,1	14,8

Control positivo: Clotrimazol cr.

Control negativo: Base de gel

#### Anexo 4. Operacionalización de las variables

VARIABLE: Independiente	Definición conceptual	Definición Operacional	DIMENSIONES	INDICADORES	ESCALA
Gel formulado a base de un aceite esencial de <i>Origanum vulgare L</i> (orégano)	Formulación magistral elaborado con aceite esencial extraído de la planta <i>Origanum vulgare L</i> (orégano).	Determinación mediante refractómetro	Refractometría	Índice de Refracción	Ordinal
		Determinación por Picnometría	Densidad	g/cm <sup>3</sup>	Ordinal
		Determinación mediante características físicas.	Control de calidad	Aspecto, Homogeneidad Extensibilidad	Nominal
		Miscibilidad en etanol de 96° y 70°	Solubilidad en etanol	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Soluble (++)</li> <li>• Medianamente soluble (+)</li> <li>• Insoluble (-)</li> </ul>	Ordinal
		Mediante diluciones	Concentración	2.5% 5% 10% 20%	Ordinal
		Se determina mediante pH-metro	Determinación de pH.	pH	Ordinal
		Concentración mínima en la cual se produce un efecto inhibitorio del hongo por parte de la sustancia antimicótica.	CMI	Porcentaje	Ordinal
VARIABLE: Dependiente	Definición conceptual	Definición Operacional	DIMENSIONES	INDICADORES	ESCALA
Actividad antimicótica	Capacidad de una sustancia natural o artificial para inhibir el crecimiento de hongos.	Medida en mm del diámetro del halo de inhibición formado.	- Tamaño del halo de inhibición	Diámetro	Ordinal
		Escala de medida estandarizada para determinar sensibilidad antimicótica	Escala de Durafort	Nula Sensible Medio Muy sensible	Ordinal

## Anexo 5. Estadística descriptiva de los grupos de datos trabajados

### Descriptives

Diámetro del halo de inhibición

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Gel de orégano al 5%	30	17,673	0,3473	0,0634	17,544	17,803	16,9	18,3
Gel de orégano al 2.5%	30	14,757	0,3866	0,0706	14,612	14,901	13,9	15,3
Control Negativo (Base de Gel)	30	6,237	0,1903	0,0347	6,166	6,308	6,0	6,6
Control Positivo (Clotrimazol)	30	22,450	0,3776	0,0689	22,309	22,591	21,8	23,3
Total	120	15,279	5,9330	,5416	14,207	16,352	6,0	23,3

## Anexo 6. Prueba de Normalidad – Kolmogorov Smirnov

### Tests of Normality

Tratamientos	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Diámetro del halo de inhibición						
Gel de orégano al 5%	0,109	30	0,200*	0,973	30	0,616
Gel de orégano al 2.5%	0,175	30	0,020	0,941	30	0,095
Control Negativo (Base de Gel)	0,176	30	0,018	0,906	30	0,012
Control Positivo (Clotrimazol)	0,112	30	0,200*	0,962	30	0,351

\*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

## Anexo 7. Prueba de homogeneidad de varianzas

### Test of Homogeneity of Variances

		Levene			
		Statistic	df1	df2	Sig.
Diámetro del halo de inhibición	Based on Mean	3,315	3	116	0,022
	Based on Median	3,229	3	116	0,025
	Based on Median and with adjusted df	3,229	3	100,165	0,026
	Based on trimmed mean	3,293	3	116	0,023

## Anexo 8. Evidencias del trabajo de campo

Figura 2. Obtención del aceite esencial





Figura 3. Índice de Refracción



Figura 4. *Medición del pH*

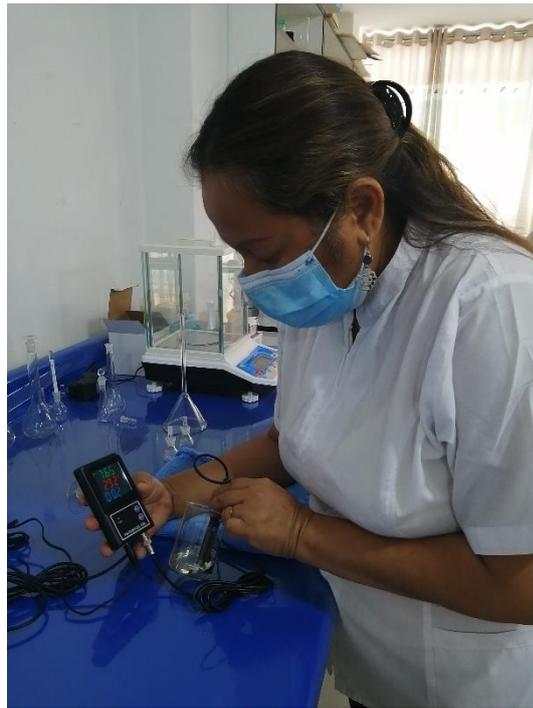


Figura 5. *Determinación de la densidad por picnometría*



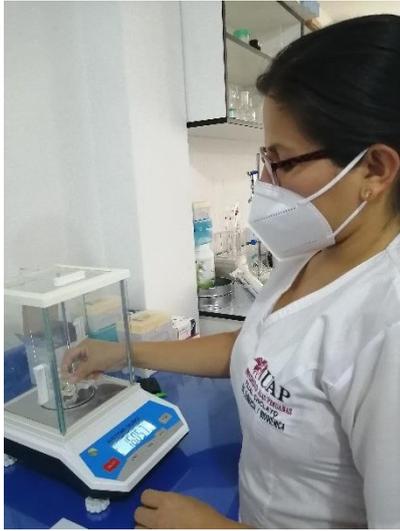


Figura 6. Activación de la *Candida albicans* ATCC 10231

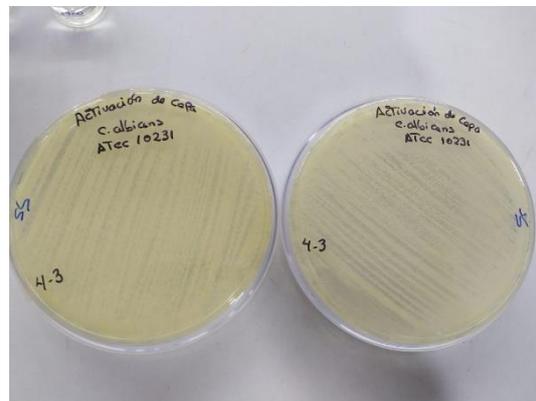
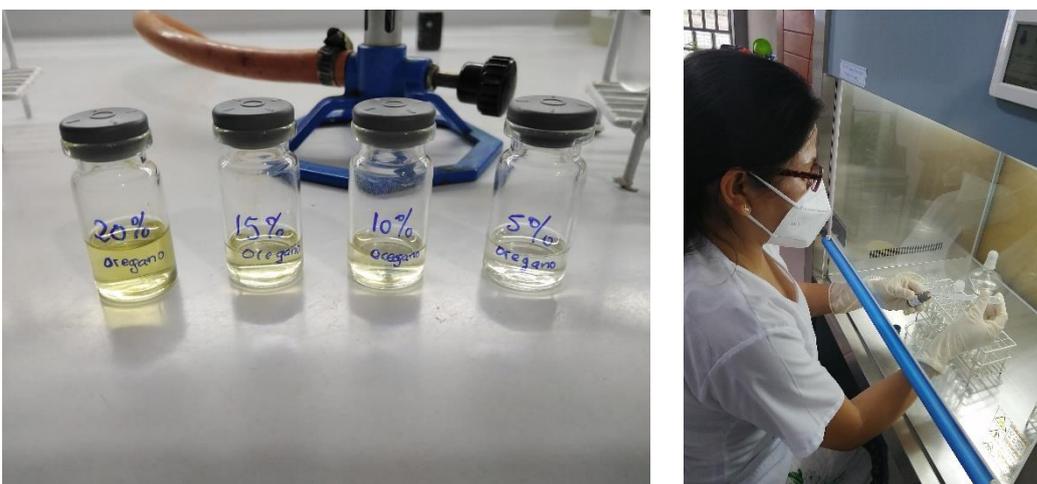


Figura 7. Preparación del inóculo de trabajo



Figura 8. Concentración mínima inhibitoria del aceite esencial



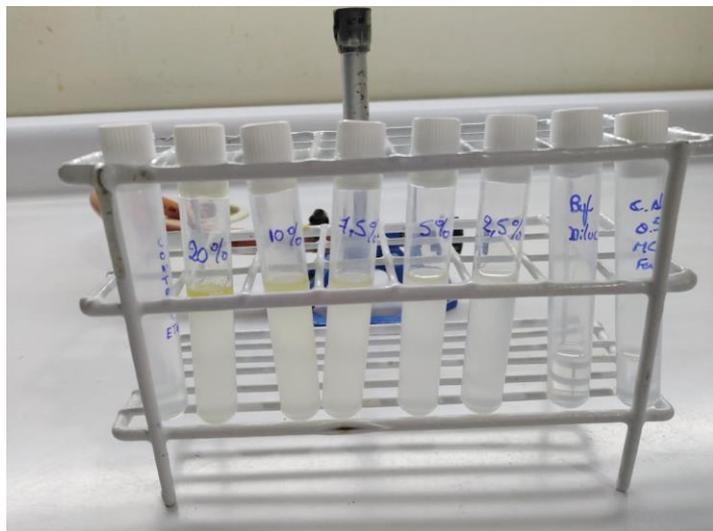
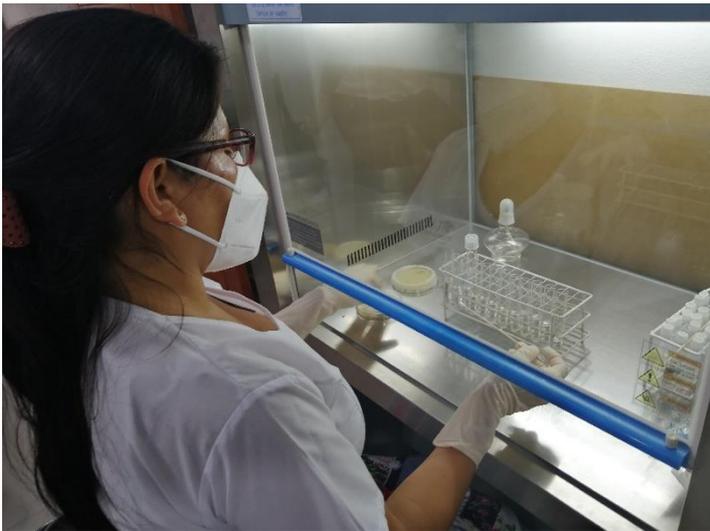




Figura 9. Efecto antimicótico comparado del gel de orégano y clotrimazol crema

