



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

TESIS

**EFFECTO ANTIMICÓTICO DE UNA CREMA A BASE DEL ACEITE ESENCIAL
DE *Origanum vulgare* (ORÉGANO) SOBRE *Candida albicans***

**PARA OPTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO**

AUTORES

**Bach. BURGA BUSTAMANTE, Agapito
Bach. VÁSQUEZ CARRANZA, Yanet Felipa**

ASESOR:

Mg. DIAZ URIBE, Julio Luis

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:

Recursos Naturales

Huancayo – Perú

2021

Dedicatoria

La presente Tesis está dedicada a Dios, ya que gracias a él he logrado concluir mi carrera.

A mi hija JOSELYN por ser mi fuente de motivación e inspiración para poder superar todos los obstáculos que se me presentaron en el camino.

A mis padres, porque ellos siempre estuvieron a mi lado brindándome su apoyo y sus consejos para hacer de mí una mejor persona.

Yanet Vásquez

A Dios, dame la vida, iluminar mi camino y preparar grandes cosas para mi

A mis padres **Flavio** y **María** que incondicionalmente me apoyaron y confiaron en mí, siempre reconoceré su apoyo moral y económico para mi educación, muchas gracias por haberme formado como hijo y persona.

A mis hermanos **Celestino**, **Adriana** y **Gladis** que me dieron su apoyo durante este proceso, y que gracias a sus consejos y palabras de aliento me sirvieron de ejemplo y me ayudaron a crecer.

A **María Nancy** por compartir tus experiencias, que me servirán para hacer mejor persona cada día.

Agapito Burga

Agradecimiento

A la “**Universidad Roosevelt de Huancayo**” y la Facultad de Farmacia y Bioquímica por acogerme y brindarnos la oportunidad para realizar nuestra tesis y obtener nuestro título profesional y se nos reconozca como tal en la sociedad.

A mi tutor **Mg. Julio Diaz** agradecer por su paciencia y constancia este trabajo no hubiera sido posible, sus consejos fueron siempre de gran ayuda tanto en la vida profesional y personal la cual forma parte importante en una cruzada tan vital para nosotros.

A mis Docentes sus palabras fueron sabias, y sus conocimientos rigurosos y precisos. A ustedes les debo mis conocimientos que les llevare conmigo en el transitar profesional, gracias por su paciencia, por compartir sus conocimientos de manara profesional e invaluable, por su dedicación perseverancia y tolerancia.

A mis Amigos y Compañeros de viaje, hoy culminamos esta maravillosa aventura y no puedo dejar de recordar cuantas tardes y horas de trabajo nos juntamos a lo largo de nuestra formación, hoy nos toca cerrar un capítulo maravilloso en esta historia de vida y no puedo dejar de agradecerlos por su apoyo y constancia, gracias por siempre.

UNIVERSIDAD PRIVADA DE HUANCAYO
FRANKLIN ROOSEVELT
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
DECANATO

Huancayo, 09 de Octubre del 2021

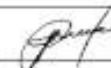


Hora: 07:20 hrs Modalidad Virtual.

Título de la tesis:

EFFECTO ANTIMICÓTICO DE UNA CREMA A BASE DEL ACETTE ESENCIAL DE Origanum vulgare (ORÉGANO) SOBRE Candida albicans

ASESOR: MG. JULIO LUIS DIAZ URIBE.

Nombres del Jurado Evaluador

| <i>Nombres del jurado evaluador</i> | <i>Firma</i> |
|--|---|
| Presidenta: DR. OSCAR FAVIO ROJAS WISA |  |
| Secretario: MG. ROCIO JERONIMA LOPEZ CALDERON |  |
| Vocal : MG. JULIO LUIS DIAZ URIBE |  |
| Suplente : MG. ANTONIO FERNANDO QUEZADA REYES | |

Resultado de la presentación y sustentación de la tesis:

| <i>NOMBRE Y FIRMA DE LOS BACHILLER</i> | <i>CALIFICACIÓN</i> | |
|---|------------------------------|----------|
| AGAPITO BURGA BUSTAMANTE  | APROBADO CON MENCIÓN HONROSA | |
| | APROBADO POR UNANIMIDAD | |
| | APROBADO POR MAYORÍA | X |
| | DESAPROBADO | |
| YANET FELIPA VASQUEZ CARRANZA  | APROBADO CON MENCIÓN HONROSA | |
| | APROBADO POR UNANIMIDAD | |
| | APROBADO POR MAYORÍA | X |
| | DESAPROBADO | |



Benjamina Z. Ortiz Espinar
Dra. Benjamina Z. Ortiz Espinar
 DECANA
 FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
 UNIVERSIDAD PRIVADA DE HUANCAYO
 FRANKLIN ROOSEVELT

DECLARATORIA DE AUTENTICIDAD.

DECLARACION JURADA SIMPLE

Yo, **Agapito Burga Bustamante**, de nacionalidad peruana, identificada con DNI N° 45970527. Tesista de la Universidad Privada de Huancayo Franklin Roosevelt, Bachiller en Farmacia y Bioquímica, domiciliado en Calle Argentina #327, Monsefú - Lambayeque.

DECLARO BAJO JURAMENTO: QUE TODA LA INFORMACION PRESENTADA ES AUTENTICA Y VERAZ, me afirmo y me ratifico en lo expresado en señal de lo cual firmo el presente documento a los 05 días del mes de setiembre del 2021.



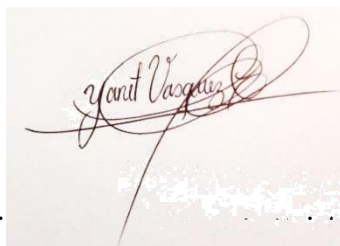
.....

Agapito Burga Bustamante

DECLARATORIA DE AUTENTICIDAD.

DECLARACION JURADA SIMPLE

Yo, **Yanet Felipa Vásquez Carranza** de nacionalidad peruana, identificada con DNI N° 43079158. Tesista de la Universidad Privada de Huancayo Franklin Roosevelt, Bachiller en Farmacia y Bioquímica, domiciliada en calle Nazca 179, urb. Villa El Sol, Leonardo Ortiz, Lambayeque. DECLARO BAJO JURAMENTO: QUE TODA LA INFORMACIÓN PRESENTADA ES AUTENTICA Y VERAZ, me afirmo y me ratifico en lo expresado en señal de lo cual firmo el presente documento a los 05 días del mes de setiembre del 2021.



.....
Yanet Felipa Vásquez Carranza

ÍNDICE

| | |
|---|----|
| I. INTRODUCCIÓN | 9 |
| II. MÉTODO | 19 |
| 2.1. Tipo y diseño de investigación | 19 |
| 2.2. Operacionalización de variables | 20 |
| 2.3. Población, muestra y muestreo | 21 |
| 2.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos, validez y confiabilidad | 21 |

| | |
|--|--------------------------------------|
| 2.5. Procedimiento | 22 |
| 2.6. Método de Análisis de datos..... | 24 |
| 2.7. Aspectos éticos | 24 |
| III. ASPECTOS ADMINISTRATIVOS | ¡Error! Marcador no definido. |
| 3.1. Cronograma ACTUALIZAR LOS MESES. | ¡Error! Marcador no definido. |
| 3.2. Presupuesto | ¡Error! Marcador no definido. |
| REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 27 |
| RESUMEN | |

Objetivo: Evaluar el potencial efecto antifúngico de una crema elaborada a base de aceite esencial de *Origanum vulgare* “orégano” sobre *Candida albicans*.

Metodología: El estudio fue de tipo cuantitativo, transversal de diseño experimental con grupos control, población de estudio fue *Origanum vulgare* L. obtenido de distrito de Ferreñafe, Lambayeque del cual se obtuvo aceite esencial por medio de arrastre con vapor y se elaboraron a partir de este, cremas a las concentraciones de 10% y 20% para determinar su efecto antimicótico contra *Candida albicans* mediante la técnica de Kirby Bauer, aplicaron también grupos control negativo (crema base) y positivo (clotrimazol crema).

Resultados: Los resultados obtenidos con respecto a la crema a base de aceite esencial de orégano al 10% frente a *Candida albicans* obtuvo halo de inhibición promedio de $12,98 \pm 0,30\text{mm}$ y al 20% fue de $16,93 \pm 0,36\text{mm}$, por otro lado, la crema base (control negativo) obtuvo halo de inhibición de $6,03 \pm 0,33\text{mm}$ y el control positivo obtuvo halo $22,93 \pm 0,34\text{mm}$, el análisis de ANOVA y Tukey determinaron diferencias estadísticamente significativas en todos los grupos de trabajo.

Conclusiones: Las cremas elaboradas a base de aceite esencial de *Origanum vulgare* “orégano” al 10% y 20% presentan efecto antimicótico sobre *Candida albicans*

Palabras claves: *Candida albicans*, *Origanum vulgare*, crema, aceite esencial, orégano
ABSTRACT

Objective: To evaluate the potential antifungal effect of a cream made from the essential oil of *Origanum vulgare* "oregano" on *Candida albicans*.

Methodology: The study was quantitative, cross-sectional with an experimental design with control groups, the study population was *Origanum vulgare* L. obtained from the Ferreñafe district, Lambayeque from which essential oil was obtained by means of steam dragging and were elaborated from This, creams at concentrations of 10% and 20% to determine their antifungal effect against *Candida albicans* using the Kirby Bauer technique, also applied negative control groups (base cream) and positive (clotrimazole cream).

Results: The results obtained with respect to the cream based on 10% oregano essential oil against *Candida albicans* obtained an average inhibition halo of 12.98 ± 0.30 mm and at 20% it was 16.93 ± 0.36 mm On the other hand, the base cream (negative control) obtained an inhibition halo of 6.03 ± 0.33 mm and the positive control obtained a halo of 22.93 ± 0.34 mm, the ANOVA and Tukey analysis determined statistically significant differences in all working groups.

Conclusions: Creams made from the essential oil of *Origanum vulgare* "oregano" at 10% and 20% have an antifungal effect on *Candida albicans*

Keywords: *Candida albicans*, *Origanum vulgare*, cream, essential oil, oregano

I. INTRODUCCIÓN

La candidiasis es una infección por hongos que afecta casi en un 90% a mujeres y hombres, es ocasionada por un hongo levaduriforme conocido como *Candida albicans*, en la mujer esta contaminación se produce generalmente en la vagina donde logra incubar produciendo fluidos vaginales y enrojecimiento¹.

La candidiasis es una enfermedad que la padecen muchas personas, especialmente las mujeres, este tipo de hongo puede ser encontrado en cualquier parte del mundo y se dice que más del 70% de los casos reportados de infección por hongos tienen como agente causante a *C. albicans* serotipo B, a esto se incrementa la resistencia que estos microorganismos están logrando².

La resistencia de estos microorganismos a medicamentos antifúngicos ha aumentado en estas últimas décadas, según Zurita E., esta resistencia ha aumentado la tasa de mortalidad lo que se relaciona con infecciones sistémicas generalmente por hongos de género *Candida* entre 20 – 50%, por hongos del género *Aspergillus* entre 40 - 80%, siendo la tasa de mortalidad de este tipo de infecciones aproximadamente el 90%³.

A nivel mundial la candidiasis se ha visto incrementada y debido a la resistencia que se ha producido en las últimas décadas ha logrado elevar las cifras de mortalidad y elevar los costos de tratamiento a nivel nosocomial⁴.

Según cifras publicadas en un revista europea se dice que 3 de cada 4 mujeres sufren de infecciones vaginales por lo menos 1 vez en el transcurso de su vida y que la incidencia de padecerla al año entre 2 y 4 veces le corresponde a la mitad de estas⁵.

Según datos de *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, las infecciones causadas por hongos se ha estimado en 832 millones de afectados correspondientes a estadísticas de catorce países de África del Norte, Asia, Europa y América de estos se estima que en cada país entre el 1.8% al 3% son infectados por hongos resistentes que causan alguna enfermedad crónica y puede llevarlos a la muerte⁶.

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, indicó que la candidiasis invasiva representa el 88% de infecciones fúngicas en pacientes hospitalizados con una mortalidad que varía entre el 36 y 40%.^{7,8}

En el Perú se observa que de las infecciones por hongos las candidiasis y aspergilosis son las más comunes y difíciles de tratar, se estima que existen 581,174 casos al año⁶. 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 estudio⁸.

Las infecciones por hongos especialmente las producidas por *C. albicans* representan un grupo importante de microorganismos que están presentando resistencia, esta generalmente se presenta por la exposición a antifúngicos, por lo tanto, se observa una enorme necesidad de encontrar alternativas o soluciones que ayuden a disminuir los índices de mortalidad e incidencia en complicaciones por causa de resistencia a este tipo de hongos como es la *Candida albicans*, En ese sentido el presente proyecto de investigación busca una alternativa práctica y eficaz al tratamiento de las micosis por *Candida albicans* a nivel de la piel, convirtiéndose los resultados de su ejecución en un conocimiento que ayude a cambiar la realidad problemática que existe con respecto a este tipo de infecciones.

Como antecedentes a nivel nacional relacionados con la investigación se menciona a Deza R. y Bustamante G. en su estudio “Actividad antimicótica de un gel formulado a base de aceite esencial de *Origanum vulgare* L. (orégano) frente a *Candida albicans*”, el objetivo fue demostrar la actividad antimicótica in vitro de un gel elaborado con aceite esencial de orégano frente a *Candida albicans*. El aceite se obtuvo de las hojas de orégano por arrastre de vapor, asimismo se realizaron pruebas fisicoquímicas y se preparó concentraciones del aceite al 2.5%, 5%, 10%, 15% y 20% para determinar su CMI. Después se formuló un gel con aceite de orégano en las

concentraciones de 2.5% y 5% al cual se aplicaron parámetros de calidad y se determinó su efecto por difusión en pozo, el control positivo fue clotrimazol. Se obtuvo un CMI de 2.5% y los halos de inhibición fueron de 14.75mm, 17.67mm y 22.45mm para el gel al 2.5%, al 5% y para el clotrimazol en crema respectivamente. Se concluyó que el gel de orégano si presenta actividad contra *C. albicans*, pero el efecto del clotrimazol en crema fue mayor.⁹

Durango O. y Mejía E. (2020), en su estudio “Comparación del efecto in vitro de los aceites esenciales de *Eucalyptus globulus* y *Origanum vulgare* sobre *Candida albicans* aislada de paciente con candidiasis vulvovaginal” establecieron como objetivo comparar el efecto in vitro del aceite de *E. globulus* con el del *O. vulgare* sobre *Candida albicans* aisladas de pacientes con candidiasis vulvovaginal. Los aceites se obtuvieron por hidrodestilación y se prepararon en concentraciones de 25, 50, 75 y 100% y la actividad antifúngica se determinó por el método de difusión en disco; la CMI y la CMF a través del conteo de unidades formadoras de colonias. Los resultados de la CMI para el *E. globulus* fue de 50% y del *O. vulgare* de 25%, además, solo el *O. vulgare* presento CMF al 75%, con respecto a la actividad antifúngica el orégano presentó mayores halos de inhibición comparado con el eucalipto. Se concluyó que el aceite de orégano presenta mayor actividad antimicótica in vitro que el aceite de eucalipto sobre las cepas de *Candida albicans* aislada de paciente con candidiasis vulvovaginal.¹⁰

Colpa M. (2016) quien comparó el efecto inhibidor del aceite de *Mentha piperita* y *Origanum vulgare* y el medicamento antimicótico nistatina, frente a cultivos de *Candida albicans*, obteniendo los resultados con respecto al *Origanum vulgare*, este generó un halo de inhibición a las 24 horas de 45.73mm y a las 48 horas 46.35mm comparados con la nistatina que presentó 17.83mm y 18.20mm respectivamente; con respecto a la *Mentha piperita* se observaron halos de inhibición de 18.85mm para 24 horas y 19.88mm para las 48 horas comparado con 19.60mm y 20.30mm que presentó la nistatina respectivamente.¹¹

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*¹².

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 bucal¹³.

A nivel internacional 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 mohos¹⁴.

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 antimicrobianos¹⁵.

Bhat V., Sharma S., Shetty V., Shastry C., Vaman C., Shenoy S., et al (2018) en su estudio “Caracterización del agente antifúngico *Origanum vulgare*, contra *Candida spp.* aislado de pacientes con estomatitis protésica, estudio in vitro”. Se extrajo el aceite esencial de las hojas secas de *O. vulgare* por hidrodestilación; la cepa se aisló de dentadura postiza, se determinó la CMI y la CMF del *O. vulgare* y a través del método de difusión en pocillos se determinó su actividad antifúngica usando como control positivo al fluconazol, por último, la caracterización se realizó por espectroscopia infrarroja. La CMI y la CMF fue de 0.024% y 0.097% respectivamente; *O.vulgare* presentó un halo inhibitorio de 30mm frente a 19mm para el fluconazol y el grupo funcional activo fue el carvacrol. Las conclusiones fueron que el grupo del aceite de orégano funcional es carvacrol y que presenta efecto antimicótico sobre *Candida spp.* incluso mayor que el fluconazol.¹⁶

Movaghari A., Sheikh M., Poor M., Abedini S. y Jamali Z. (2018) en su investigación “Comparación del efecto antifúngico del extracto de *Origanum vulgare* frente a la Nistatina en *Candida albicans*; un estudio in vitro”. Su objetivo fue comparar los efectos antifúngicos del extracto de *O. vulgare* con la Nistatina en *Candida albicans*. Se prepararon extractos acuosos y alcohólicos de *O. vulgare* en concentraciones de 10, 20, 40, 80 y 100%, la cepa se cultivó en una placa con Sabouraud Dextrose Agar y dentro se colocó un disco que contenía las concentraciones de los extractos de *O. vulgare*, un disco de Nistatina como control positivo y un disco que contenía agua destilada como control negativo. El diámetro promedio del halo de de los extractos acuosos y alcohólicos de *O. vulgare* fue significativamente menor que el de la Nistatina en todas las concentraciones. El efecto antifúngico de los extractos acuosos y alcohólicos de *O. vulgare* fue menor que la Nistatina sobre *Candida albicans*.¹⁷

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*¹⁸.

Con respecto al marco teórico del estudio, *Candida albicans* es un hongo que se presenta en dos formas morfológicas o dos tipos distintos, esta depende de la temperatura del medio, presentándose en la forma de levadura cuando se encuentra a una temperatura de 37°C en el huésped y cuando se encuentra a 25°C aproximadamente el aspecto que presenta es el filamentoso, por lo general en el medio ambiente. Pertenece al filo Ascomycota, reproduciéndose por gemación de forma asexual.^{19,20}

Por su parte, *Origanum vulgare* “Orégano” es una planta vivaz, aromática, es una especie de la familia Lamiaceae, que forma parte de aquella nutrida relación de plantas que cuentan con un lugar destacado en la cocina. Llega a medir entre 30 a 45 cm.²¹

Esta planta presenta propiedades aromáticas por eso tiene una amplia aplicación en el arte culinario pero también sus aceites esenciales presentan propiedades farmacéuticas usadas antimicrobianas, fungicidas, antioxidantes, para prevenir resfriados, tratar gastroenteritis aguda, dolor abdominal, menstruación irregular, prurito y otras enfermedades, así como también propiedades antioxidantes²². El componente principal que nos interesa es la esencia de orégano, muy rica en timol, carvacrol y terpineol; esta esencia es de color amarillo limón y se encuentra en cantidades variables, entre el 0,14 y el 0,45 %.²³

Actualmente él orégano se encuentra distribuido a nivel mundial y su cultivo se realiza a partir de semillas (reproducción sexual) o estacas (reproducción asexual).²³⁻²⁵

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.²⁴

Dentro de sus propiedades terapéuticas el orégano se utiliza como: antioxidante, antibacteriano, antimicótico, antiséptico, tónico, digestivo, anticancerígeno, antiinflamatorio, emenagogo, antiespasmódico, expectorante, diurético, emoliente, vulnerario.^{24,26,27}

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.^{24,28,29}

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.^{11,29}

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.³⁰⁻³²

Los aceites esenciales se almacenan en estructuras especiales de la planta llamadas glándulas epidérmicas, células secretoras o células epidérmicas.^{32,33}

Se caracterizan por ser líquidos con poca o nada de solubilidad en agua, pero si 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.³⁴

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.³⁵

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:^{23,36,37}

- 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 alergias³⁴.

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.³⁸

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 crema³⁹.

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 KirbyBauer uno de los métodos recomendados por el National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS).⁴⁰

El método Kirby-Bauer se utiliza para evaluar la sensibilidad de un microorganismo in vitro frente a una concentración determinada de una sustancia antimicrobiana que será embebida en discos de papel filtro 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.⁴¹

Es de suma importancia que los medios de cultivo que se emplean para el crecimiento de microorganismos, deben provenir de laboratorios certificados y especializados.⁴²

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.⁴³

En ese sentido, nos formulamos la pregunta de investigación ¿Cuál será efecto antimicótico de una crema a base del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) sobre *Candida albicans*?, del mismo modo, los problemas específicos serían, ¿Cuál será efecto antimicótico de una crema a base del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) al 10% sobre *Candida albicans*?, ¿Cuál será efecto antimicótico de una crema a base del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) al 20% sobre *Candida albicans*? y ¿Cuál el efecto antimicótico de una crema a base del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) comparada con una crema antimicótica comercial sobre *Candida albicans*?

Las infecciones vaginales producidas por *Candida albicans* presentan difícil tratamiento debido a la alta resistencia que estos microorganismos presenta a los antifúngicos, por lo que es necesario buscar alternativas que no promuevan la resistencia de estos microorganismos, como es mediante el empleo de plantas.

En ese sentido el presente estudio nos permitirá evaluar el potencial efecto antifúngico de una crema elaborada a base de aceite esencial de *Origanum vulgare* “orégano” sobre *Candida albicans*, el cual puede ser considerado como tratamiento alternativo inicial y de bajo costo, esto permitirá combatir ,las infecciones de la piel producidas por este hongo, esto repercutirá en un mejor tratamiento y eficacia farmacológica posterior, del mismo modo disminuirá el costo que produce este tipo de patologías.

Por tal motivo, se plantea el siguiente objetivo general, determinar el efecto antimicótico de una crema a base del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) sobre *Candida albicans*, a partir de este se formula los siguientes objetivos específicos, determinar el efecto antimicótico de una crema a base del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) al 10% sobre *Candida albicans*, determinar el efecto antimicótico de una crema a base del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) al 20% sobre *Candida albicans*, y comparar el efecto antimicótico de una crema a base del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) con una crema antimicótica comercial sobre *Candida albicans*.

La hipótesis general que formula el presente estudio es, la crema a base del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) presenta efecto antimicótico sobre *Candida albicans*, a partir de este se formula los siguientes objetivos específicos, la crema a base del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) al 10% presenta efecto antimicótico sobre *Candida albicans*, la crema a base del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) al 20% presenta efecto antimicótico sobre *Candida albicans* y el efecto antimicótico de una crema a base del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) sobre *Candida albicans* es superior que una crema antimicótica comercial

II. MÉTODO

2.1. Tipo y diseño de investigación

2.1.1 Tipo de investigación

El estudio es de tipo cuantitativo, 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 es experimental, el cual 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 crema 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 |
|---|--|--|--------------------|--------------------|---------------|
| Crema formulada 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). | Ingredientes empleados en la formulación en porcentajes definidos. | Concentración | 10% 20% | 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. | Diámetro | milímetros | Ordinal |

2.3. Población, muestra y muestreo

2.3.1 Población

Especie vegetal *Origanum vulgare L* (orégano), la cual se recolectará 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

- Difusión en disco, mediante la cual se determina la sensibilidad de un microorganismo a una sustancia por 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 Recolección de la muestra e identificación taxonómica

Se recolectará la muestra de la especie de *Origanum vulgare L* “orégano” del distrito de Pítipo, 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 lejía al 1%, agua corriente y luego con agua destilada para eliminar cualquier rastro de contaminación. Seguidamente se secó a temperatura ambiente en bajo sombra por 48 horas.

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

Se pesó 5000g de hojas secas de *Origanum vulgare L* “Orégano” y fueron colocadas en cantidades de 500gr en el equipo de arrastre de vapor, luego se agregó 10 litros de agua, se cerró herméticamente 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 agotar los 5000g de muestra.

2.5.4 Elaboracion de la base crema formulado a base de aceite esencial de *Origanum vulgare* “orégano”⁴⁴

Para su elaboración, primero se elaboró la base crema, se pesó el alcohol cetílico, la cera blanca de abeja y se disolvieron juntos a baño maria (70 a 75°C), luego se disolvió también con calor la fase acuosa que corresponde al propilenglicol y laurilsulfato de sodio; se juntan las dos fases y agregamos agua conservante cantidad necesaria de acuerdo a la cantidad elaborada. Se envasó, rotuló y se llevó a refrigeración.

Para preparar crema a base de aceite esencial de orégano, primero se midió las cantidades necesarias de aceite esencial de orégano en relación al peso de la crema para preparar a una concentración del 10 y 20%, y se incorporó en la base crema, seguidamente se mezcló con una espátula para uniformizar crema. Se envasó, rotuló y se llevó a refrigeración.

Fórmula:

Alcohol cetílico.....1g
Cera blanca de abeja5g
Propilenglicol.....100g
Laurilsulfato de sodio.....100g
Agua conservantec.s.p. 100g

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

La cepa ATCC 10231 liofilizada se retirará del envase que la contenía y se mezclará con la ampolla para su reconstitución, luego se humedecerá un hisopo estéril con la cepa reconstituida y se sembrará 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 Evaluación de la actividad antimicótica

Se utilizarán discos de papel de filtro estériles de 6mm de diametro los cuales fueron embebidos con la crema a base de aceite esencial de orégano al 10% y al 20%, seguidamente con una pinza estéril se colocaran sobre las placas petri con *Candida albicans*.

Se incorporarán 4 discos por cada placa: 01 control negativo que fue la crema base, un control positivo que fue Clotrimazol en crema, un disco al 10% y el otro al 20%, se realizaron 15 repeticiones de cada uno.

Las placas serán llevadas a incubación de 37°C por 24 horas, finalmente se determinará 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 obtengan se analizarán mediante un programa estadístico llamado SPSS versión 26, el cual ayudará a determinar la estadística descriptiva de cada variable, a su vez se realizaran pruebas de normalidad y pruebas de homogeneidad de varianzas y posteriormente las pruebas inferenciales mediante ANOVA y Tukey. Para cada caso se empleará un nivel de significancia de 0.05.

2.7. Aspectos éticos

- El presente estudio respetará 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.⁴⁵
- Además, se aplicarán los principios de bioseguridad para el personal que realizará el trabajo microbiológico, así como también serán eliminados de forma correcta los desechos con el fin de evitar daños al medio ambiente.⁴⁶

III. RESULTADOS

Tabla 1. Estadística descriptiva para los datos de los grupos experimentales y control

Descriptives

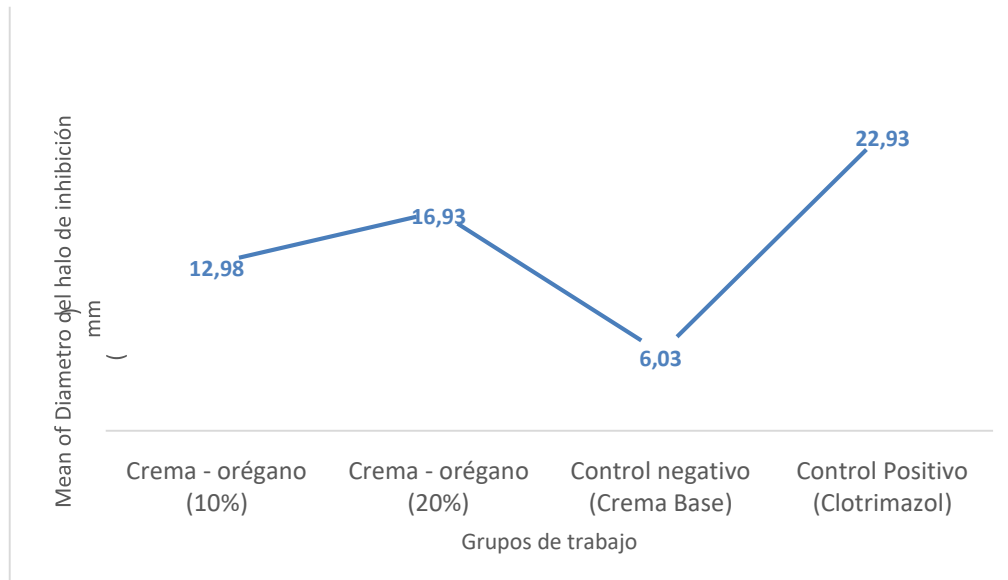
Diámetro del halo de inhibición (mm)

| | N | Media | Desv. Estándar | Error Estándar | 95% Intervalo de confianza para la Media | | Mínimo | Máximo |
|--------------------------------|-------|-------|-------------------|-------------------|---|-----------------|--------|--------|
| | | | | | Límite inferior | Límite superior | | |
| Crema - orégano (10%) | 15,00 | 12,98 | 0,30 | 0,08 | 12,81 | 13,15 | 12,60 | 13,60 |
| Crema - orégano (20%) | 15,00 | 16,93 | 0,36 | 0,09 | 16,73 | 17,13 | 16,20 | 17,60 |
| Control negativo (Crema Base) | 15,00 | 6,03 | 0,33 | 0,09 | 5,85 | 6,22 | 5,40 | 6,60 |
| Control Positivo (Clotrimazol) | 15,00 | 22,93 | 0,34 | 0,09 | 22,75 | 23,12 | 22,40 | 23,80 |
| Total | 60,00 | 14,72 | 6,20 | 0,80 | 13,12 | 16,32 | 5,40 | 23,80 |
| Crema - orégano (10%) | 15,00 | 12,98 | 0,30 | 0,08 | 12,81 | 13,15 | 12,60 | 13,60 |

Fuente: SPSS ver. 26

La tabla 1 se observa la media de los datos de los halos de inhibición obtenidos, así mismo, se describe los parámetros de precisión y variación como la media, desviación estándar y los límites de confianza entre otros, la crema a base de aceite de orégano 10% frente a *Candida albicans* obtuvo halo de inhibición promedio de $12,98 \pm 0,30\text{mm}$ y al 20% fue de $16,93 \pm 0,36\text{mm}$, por otro lado, la crema base (control negativo) obtuvo halo de inhibición de $6,03 \pm 0,33\text{mm}$ y el control positivo obtuvo halo $22,93 \pm 0,34\text{mm}$.

Figura 1. Comportamiento según medias de los grupos experimentales y control



Fuente: SPSS ver. 26

La figura 1 se muestra el promedio de los halos de inhibición con respecto a los grupos experimentales y control, se observa que la crema de clotrimazol (control positivo) obtuvo halos de inhibición de mayor tamaño frente a *Candida albicans* comparado con las cremas a base de aceite de orégano al 10% y 20%, por otro lado, el control negativo mostró halos de inhibición de inferiores a los otros grupos de trabajo, lo que demuestra que la crema base no muestra efecto sobre este microorganismo.

Tabla 2. Prueba de distribución normal para cada grupo de tratamientos

| Grupos de trabajo | Kolmogorov-Smirnov ^a | | Shapiro-Wilk | | | | |
|--------------------------------------|---------------------------------|-------|--------------|-----------|-------|------|-------|
| | Statistic | df | Sig. | Statistic | df | Sig. | |
| Diámetro del halo de inhibición (mm) | Crema - orégano (10%) | 0,204 | 15 | 0,093 | 0,921 | 15 | 0,199 |
| | Crema - orégano (20%) | 0,180 | 15 | ,200* | 0,966 | 15 | 0,792 |
| | Control negativo (Crema Base) | 0,144 | 15 | ,200* | 0,966 | 15 | 0,800 |
| | Control Positivo (Clotrimazol) | 0,194 | 15 | 0,134 | 0,915 | 15 | 0,164 |
| | Crema - orégano (10%) | 0,204 | 15 | 0,093 | 0,921 | 15 | 0,199 |
| | Crema - orégano (20%) | 0,180 | 15 | ,200* | 0,966 | 15 | 0,792 |

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

a. Lilliefors Significance Correction

Fuente: SPSS ver. 26

En la tabla 2 se muestra el análisis realizado por la prueba de Kolmogorov-Smirnov y ShapiroWilk para verificar la distribución normal de los datos, comparando el nivel de significancia obtenido en las pruebas con el nivel de significancia establecido en el estudio (alfa=0,05) se confirma que los datos de todos los grupos de experimental y control tienen distribución normal.

Tabla 3. Prueba de homogeneidad de varianzas (Levene)

| | Levene Statistic | df1 | df2 | p-valor |
|---|---------------------|-----|--------|---------|
| Based on Mean | 0,131 | 3 | 56 | 0,941 |
| Diámetro del halo Based on Median | 0,093 | 3 | 56 | 0,964 |
| de inhibición Based on Median and with adjusted df | 0,093 | 3 | 54,191 | 0,964 |
| Based on trimmed mean | 0,147 | 3 | 56 | 0,931 |

Fuente: SPSS ver. 26

En la tabla 3, se observa el análisis realizado a los datos de cada grupo experimental y control mediante la prueba de Levene para la determinación de la homogeneidad de varianzas con respecto a la media de los grupos analizados; del mismo modo, al comparar los valores del pvalor con el nivel de significancia alfa = 0,05; se confirma que los datos presentan varianzas homogéneas.

Tabla 4. Análisis de la varianza (ANOVA)

| | Diámetro del halo de inhibición | | | | |
|----------------------|---------------------------------|----|-------------------|----------|----------|
| | Suma de cuadrados | df | Media al cuadrado | F | p-valor. |
| Entre grupos | 2262,210 | 3 | 754,070 | 6745,674 | 0,000 |
| Dentro de los grupos | 6,260 | 56 | 0,112 | | |

| | | | | | |
|-------|----------|----|--|--|--|
| Total | 2268,470 | 59 | | | |
|-------|----------|----|--|--|--|

Fuente: SPSS ver. 26

Posterior al análisis de la distribución normal y homogeneidad de las varianzas de los datos de cada grupo analizados, se aplicó la prueba de ANOVA o análisis de las varianzas, la que se muestra en la tabla 4, esta prueba nos permite determinar si los grupos de datos analizados presentan diferencias estadísticamente significativas al comparar sus medias, en tal sentido, luego del análisis realizado se obtuvo un valor $p=0,00$; por lo tanto, se confirma que los grupos de datos presentan al menos un grupo con diferencia estadísticamente significativa en su media comparada con los demás grupos.

Tabla 5. Análisis por sub grupos homogéneos mediante la prueba de Tukey

| Diametro del halo de inhibición (mm) Tukey | | | | | |
|--|----|--------|---------|---------|---------|
| HSD ^a | | | | | |
| : for alpha = 0.05 | | | | | |
| Grupos de trabajo | N | 1 | 2 | 3 | 4 |
| Control negativo (Crema Base) | 15 | 6,0333 | | | |
| Crema - orégano (10%) | 15 | | 12,9800 | | |
| Crema - orégano (20%) | 15 | | | 16,9267 | |
| Control Positivo (Clotrimazol) | 15 | | | | 22,9333 |
| Sig. | | 1,000 | 1,000 | 1,000 | 1,000 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 15,000. Fuente: SPSS ver. 26

La tabla 5, muestra el análisis de datos realizado por la prueba de Tukey mediante sub grupos homogéneos, donde se observa diferencias significativas en todos los grupos de datos analizados, se observa que el la crema a base de aceite de orégano presenta efecto antimicótico para ambas concentraciones (10% y 20%) al compararlo con el control negativo, así mismo, el

todos los grupos presentan diferencias significativas, presentado mayor efecto sobre *Candida albicans* la crema de clotrimazol (control positivo)

IV. DISCUSIÓN

El efecto antimicótico del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) fue puesto a prueba mediante una formulación magistral en crema al 10% y al 20% empleando como patrón negativo la crema base (sin aceite) según la formulación descrita en la metodología y como control positivo se utilizó clotrimazol en crema, los mismos que fueron aplicados por el método de Kirby-Bauer sobre *Candida albicans*.

Los resultados de las pruebas fueron sometidos a análisis estadístico mediante pruebas inferenciales de ANOVA y Tukey demostrando efectividad antimicótica de ambas formulaciones magistrales (10% y 20%), la formulación en crema a base del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) en una concentración del 20% formó un halo de inhibición promedio de $16,93 \pm 0,36$ mm presentando mejor efecto antimicótico que la crema al 10% que formó un halo promedio de $12,98 \pm 0,30$ mm, sin embargo, no fue mejor que el control positivo (clotrimazol), debido a que este formó un halo de inhibición promedio de $22,93 \pm 0,34$ mm.

Deza R. y Bustamante G. (2021), sobre la actividad antimicótica in vitro de un gel elaborado con aceite esencial de orégano (extraído por arrastre de vapor) frente a *Candida albicans*, determinaron su actividad antimicótica por el método de difusión en pozo, encontrando halos de inhibición promedio de 14.75mm y 17.67mm para el gel al 2.5% y al 5% respectivamente, no obstante, sus halos de inhibición comparado con los nuestros, presentan diferencias en el tamaño debido a que ellos con menores concentraciones del gel elaborado a base de aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) obtuvieron mayores medidas en sus halos de inhibición, que podría estar relacionado a la diferente forma farmacéutica del preparado magistral utilizado o al método con el que se determinó su actividad antimicótica que en nuestro estudio fue difusión en disco.

En los resultados obtenidos de la investigación se puede observar mediante el método de KirbyBauer que el diámetro de los halos de inhibición de la crema a base del aceite esencial de orégano en las concentraciones del 10 y 20% sobre *Candida albicans* son de 12.98mm y 16.93mm, corroborándose con el trabajo de Durango O. y Mejía E. (2020), quienes a través del método de

Kirby-Bauer encontraron halos de inhibición de 14.7mm, 24.2mm, 39mm y 48.6mm para el aceite esencial de orégano al 25%, 50%, 75% y 100%, de acuerdo con estos resultados podemos inferir que la formulación magistral (crema) utilizada en el presente estudio no interfiere con el efecto antimicótico sobre *Candida albicans*, asimismo, Colpa M. (2016), mediante la técnica de difusión en pozo, también obtuvo halos de inhibición 22.30mm, 27.30mm, 33.13mm y 45.73 del aceite esencial de orégano. Estos resultados son congruentes con nuestro estudio al comparar el tamaño de los halos de inhibición obtenidos.

Otro estudio realizado por Francisca R. (2019), con la misma metodología de Kirby-Bauer, pero con otra técnica de extracción y diferente especie, muestra los siguientes halos de inhibición promedio 14.25mm, 18.5mm, 22mm y 43.5mm para el aceite esencial de orégano al 25%, 50%, 75% y 100% respectivamente, observando una disparidad con nuestro estudio en las concentraciones de la crema formulada a base de aceite de orégano al 25%, donde obtuvimos un halo promedio de $16,93 \pm 0,36$ mm, esta diferencia puede ser atribuida a la calidad de la muestra, la estación de la recolección, el tratamiento previo de la muestra o el método de extracción utilizado para obtener el aceite esencial de orégano.

Por su parte, Villavicencio J., Moromi H., Salcedo D., Pineda M., Ramos D., Zambrano L., et al (2017), compararon el aceite de Orégano recolectado de dos zonas geográficas distintas (Tacna y Jauja), el aceite de orégano recolectado de Tacna obtuvo mayores halos de inhibición frente a *Candida albicans* comparado con el de Jauja, además, las concentraciones al 12.5% y 25% formaron halos de 8mm y 11.43mm, medidas menores a nuestro experimento, la cual como ellos también lo indican podría deberse al lugar de procedencia de la muestra.

Para finalizar, el efecto antimicótico observado en la formulación de la crema a base del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) en una concentración del 10 y 20% sobre *Candida albicans* se respalda del estudio de Pradebon L., Da Silva T., Freitag R. y Guerra R., (2017), quienes realizaron un screening fitoquímico del aceite de *Origanum vulgare* por cromatografía de gases y describieron que sus principales compuestos fenólicos responsables del efecto sobre *Candida albicans* son: terpineol, timol, terpineno y carvacrol, indicando su efecto a partir del 1%, 5% y 10%. De la misma manera, Bhat V., Sharma S., Shetty V., Shastry C., Vaman C., Shenoy S., et al (2018), caracterizaron el aceite esencial de orégano por espectroscopía

infrarroja, observando la estructura del carvacrol, responsable de su efecto antimicrobiano, el mismo formó un halo de inhibición de 30mm frente a *Candida albicans*.

V. CONCLUSIONES

1. La crema a base del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) al 10% presentó efecto antimicótico sobre *Candida albicans*, mostrando halo de inhibición de $12,98 \pm 0,30$ mm.
2. La crema a base del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) al 20% presentó efecto antimicótico sobre *Candida albicans*, mostrando halo de inhibición de $16,93 \pm 0,36$ mm.
3. La crema a base del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) al 20% y 10% presentó efecto antimicótico menor sobre *Candida albicans* que la crema antimicótica clotrimazol.

VI. RECOMENDACIONES

- El uso de las formulaciones galénicas tiene baja demanda comparado con otros productos farmacéuticos comerciales; sin embargo, estos también demuestran efectividad en el tratamiento de enfermedades a menor costo y sin contraindicaciones; por lo tanto, se recomienda realizar investigaciones que demuestren la efectividad de estos productos en combinación con productos naturales.
- Se recomienda a la población el uso de formulaciones galénica para tratamiento de enfermedades leves como alternativas de bajo costo y que presentan efectividad.
- Se recomienda a las universidad y hospitales impulsar el uso de los preparados magistrales en las farmacias de farmacotecnia como tratamiento complementario o alternativo para distintos tipos de enfermedades.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. MifarmaEspaña. La candidiasis como problema. Síntomas, diagnóstico, tratamiento y prevención. Cuida de tu salud [Internet]. 2017 [citado 4 de julio de 2021]. Disponible en: <https://mifarmaciaespana.com/la-candidiasis-como-problema-sintomas-diagnosticotratamiento-y-prevencion-cuida-de-tu-salud/>
2. Pineda J. et al. Candidosis vaginal. Revisión de la literatura y situación de México y otros países latinoamericanos. Rev Médica Risaralda [Internet]. 2017 [citado 11 de julio de 2021];23(1):38-44. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/rmri/v23n1/v23n1a09.pdf>
3. Zurita Macalupú S. SITUACIÓN DE LA RESISTENCIA ANTIFÚNGICA DE ESPECIES DEL GÉNERO Candida EN PERÚ. Rev Peru Med Exp Salud Publica. 2018;35(1):126-31.
4. Lazo V, Hernández G, Méndez R. Candidiasis sistémica en pacientes críticos, factores predictores de riesgo. Horiz Médico [Internet]. 2018;18(1):75-85. Disponible en: <http://www.horizontemedico.usmp.edu.pe/index.php/horizontemed/article/view/710>
5. 20minutos.es. El 75 % de las mujeres ha sufrido al menos una vez en la vida alguna infección vaginal [Internet]. XIV Encuentro Nacional de Salud y Medicina de la Mujer. 2016. Disponible en: <https://www.20minutos.es/noticia/2063900/0/75-por-cientomujeres/infeccion-vaginal/hongo-candida/>
6. Bustamante B, Denning DW, Campos PE. Serious fungal infections in Peru. Eur J Clin Microbiol Infect Dis [Internet]. 10 de junio de 2017 [citado 11 de julio de 2021];36(6):943-8. Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/s10096-017-2924-9>
7. Santolaya ME, Alvarado Matute T, de Queiroz Telles F, Colombo AL, Zurita J, Tiraboschi IN, et al. Recomendaciones para el diagnóstico de la candidemia. Rev Iberoam Micol. 2016;30(3):158-70.
8. 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.

9. Deza R. y Bustamante G. Actividad antimicótica de un gel formulado a base de aceite esencial de *Origanum vulgare* L. (orégano) frente a *Candida albicans*. Universidad Privada de Huancayo Franklin Roosevelt. 2021.
10. Durango O. y Mejía E. Comparación del efecto in vitro de los aceites esenciales de *Eucalyptus globulus* y *Origanum vulgare* sobre *Candida albicans* aislada de paciente con candidiasis vulvovaginal. *Rev Médica Trujillo*. 2020;15(1):11-25.
11. Colpa M. Efecto inhibitor 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.
12. Ruiz F. Antibacteriano in vitro del aceite esencial de *Origanum vulgare* (oregano) sobre *Salmonella typhi*. Universidad Nacional de Trujillo; 2019.
13. 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.
14. 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 (*origanum vulgare*) y proteína de suero de leche aislada. 2018. 2018.
15. 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).
16. Bhat V., Sharma S., Shetty V., Shastry C., Vaman C., Shenoy S. et al. Caracterización del agente antifúngico *Origanum vulgare*, contra *Candida* spp. aislado de pacientes con estomatitis protésica, estudio in vitro”. *Contemp Clin Dent [Internet]*. 1 de junio de 2018 [citado 23 de julio de 2021];9(Suppl 1):S3. Disponible en: /pmc/articles/PMC6006875/
17. Movaghari A., Sheikh M., Poor M. AS y JZ. Comparison of Anti-Fungal Effect of *Origanum Vulgare* Extract Versus Nystatin On *Candida Albicans*; an In Vitro Study. *J Mashhad Dent Sch [Internet]*. 2018 [citado 23 de julio de 2021];42(3):271-7. Disponible en: https://jmnds.mums.ac.ir/article_11470_en.html

18. 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>
19. Prats G. *Microbiología Clínica* [Internet]. Alcocer A, editor. España: Editorial Médica Panamericana; 2005. Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-enfermedadesinfecciosas-microbiologia-clinica-28-articulo-microbiologia-clinica-guillem-prats13086560>
20. Allen, Janda. *Koneman- Diagnóstico microbiológico*. 6ta. ed. Washington W, editor. Madrid - España: Editorial Médica Panamericana; 2006.
21. Grünwald J, Jänicke C. *Manual de Farmacia Verde*. 1ra ed. México: Centro para Desarrollo en Centro América; 2014. 264 p.
22. Gong HY, Liu WH, Lv GY, Zhou X. Analysis of essential oils of *Origanum vulgare* from six production areas of China and Pakistan. *Rev Bras Farmacogn* [Internet]. enero de 2014 [citado 6 de junio de 2019];24(1):25-32. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0102695X14701292>
23. Kuklinski C. *Farmacognosia: «Estudios de las Drogas y Sustancias Medicamentosas de Origen Natural»* [Internet]. Barcelona - España: Ediciones Omega S.A.; 2010. 400 p. Disponible en: <https://es.scribd.com/document/280112637/100352432-FarmacognosiaC-Kuklinski-pdf>
24. 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=es419&sa=X&ved=2ahUKEwjmxffZw-XqAhVgK7kGHfvuCBE4ChDoATAEegQIBBAC#v=onepage&q=Cinnamomum+zeylanicum&f=false>

25. León B, Roque J, Ulloa C, Pitman Ni. El libro rojo de las plantas endémicas del Perú. *Rev Peru Biol.* 2010;13(2).
26. 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.
27. 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>
28. Tellez L, Nolazco 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>
29. 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>
30. Martínez A. Aceites Esenciales. Div Publicaciones UIS. 2016;180.
31. Peredo H, Palou E, López A. Aceites esenciales: métodos de extracción. *Temas Sel Ing Aliment* [Internet]. 2010;3(1):24-32. Disponible en: <https://tsia.udlap.mx/aceitesesenciales-metodos-de-extraccion/>
32. 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.
33. Sanchez M. Los Aceites Esenciales: La Perfecta Medicina De La Naturaleza. [Internet]. Google Libros. 2017 [citado 20 de julio 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

34. 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>
35. 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.
36. 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>
37. 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-depropiedades-fisico-quimicas-de-d_splKQjL.pdf
38. 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.
39. 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.
40. Picazo J. Procedimientos en Microbiología Clínica. Who [Internet]. 2015; Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2017/bacteria-antibiotics-needed/es/>
41. Sacsquispe 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-laboratorystandards-institute-advancing-quality-in-health-care-testing.html>
42. Murray P., Rosenthal K. y Tenover F. C. Microbiología médica [Internet]. Google Libros. 2017 [citado 19 de julio de 2021]. Disponible en: https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=GOaVDgAAQBAJ&oi=fnd&pg=PP1&dq=medios+de+cultivo+microbiológico&ots=hRiSHMJWol&sig=Q_hlut3UZJnoJKJ_NQR4FNIVcU4#v=onepage&q=medios+de+cultivo+microbiológico&f=false
43. Jiménez L. Eficacia del tratamiento de otomicosis. comparación entre antimicóticos tópicos: Clotrimazol vs Tolnaftato. ensayo clínico controlado aleatorizado. 2018.
44. Ministerio de Sanidad Consumo y Bienestar Social E. Formulario Nacional Español. Ley 29/2006 España; 2019 p. 335-6.
45. Colegio Médico del Perú. Código de Ética y Deontología. Colegio Médico del Perú. 2007;16-7.
46. 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.

Anexo I. Matriz de consistencia

| |
|---|
| Autor (es): Bach. BURGA BUSTAMANTE, Agapito / Bach. VÁSQUEZ CARRANZA, Yanet Felipa |
| Tema: EFECTO ANTIMICÓTICO DE UNA CREMA A BASE DEL ACEITE ESENCIAL DE <i>Origanum vulgare</i> (ORÉGANO) SOBRE <i>Candida albicans</i> |

| Problema general | Objetivo general | Hipótesis General | Variables y dimensiones | Metodología |
|--|---|--|---|--|
| ¿Cuál será efecto antimicótico de una crema a base del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> (orégano) sobre <i>Candida albicans</i> ? | Determinar el efecto antimicótico de una crema a base del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> (orégano) sobre <i>Candida albicans</i> | La crema a base del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> (orégano) presenta efecto antimicótico sobre <i>Candida albicans</i> | Variable Independiente (x) X1 : crema a base del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> (orégano) Dimensiones: Refractometría Densidad Control de calidad Solubilidad en etanol Concentración. Determinación del pH | Alcance de la investigación: Cuantitativo Método de la investigación: Transversal Diseño de la investigación: Experimental Población: <i>Origanum vulgare L</i> Muestra: Aceite esencial de <i>Origanum vulgare L</i> |
| Problemas específicos | Objetivos específicos | Hipótesis específicas | | |
| ¿Cuál será efecto antimicótico de una crema a base del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> (orégano) al 10% sobre <i>Candida albicans</i> ? | Determinar el efecto antimicótico de una crema a base del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> (orégano) al 10% sobre <i>Candida albicans</i> | La crema a base del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> (orégano) al 10% presenta efecto antimicótico sobre <i>Candida albicans</i> . | | |
| ¿Cuál será efecto antimicótico de una crema a base del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> (orégano) al 20% sobre <i>Candida albicans</i> ? | Determinar el efecto antimicótico de una crema a base del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> (orégano) al 20% sobre <i>Candida albicans</i> . | La crema a base del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> (orégano) al 20% presenta efecto antimicótico sobre <i>Candida albicans</i> | | |
| ¿Cuál el efecto antimicótico de una crema a base del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> (orégano) comparada con una crema antimicótica comercial sobre <i>Candida albicans</i> ? | Comparar el efecto antimicótico de una crema a base del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> (orégano) con una crema antimicótica comercial sobre <i>Candida albicans</i> . | El efecto antimicótico de una crema a base del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> (orégano) sobre <i>Candida albicans</i> es superior que una crema antimicótica comercial | Variable Dependiente (y) Y1: Actividad antimicótica Dimensión: CMI | Técnicas de recopilación de información: Macrodilución Refractometría Picnometría Técnicas de procesamiento de información: Estadística descriptiva y ANOVA y Tukey mediante SPSS 26 |

Anexo .

2 Operacionalización de las variables

| VARIABLE: Independiente | Definición conceptual | Definición Operacional | DIMENSIONES | INDICADORES | ESCALA |
|---|--|--|--------------------|--------------------|---------------|
| Crema formulada 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). | Ingredientes empleados en la formulación en porcentajes definidos. | Concentración | 10% 20% | 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. | Diámetro | milímetros | Ordinal |

Anexo .

3 Identificación taxonómica de la especie vegetal

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

CERTIFICACIÓN BOTÁNICA

El Biólogo colegiado, certifica que la planta conocida como "ORÉGANO" proporcionado por los Bachilleres, BURGA BUSTAMANTE AGAPITO y VÁSQUEZ CARRANZA YANET FELIPA, Tesis de la Universidad Privada de Huancayo Franklin Roosevelt, ha sido estudiada científicamente y determinada como *Origanum vulgare L.* 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 los interesados para los fines que estime conveniente.

Lima, 30 agosto 2021


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

Anexo .

Anexo .

4 Certificado ATCC de la cepa en estudio



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

| | |
|--|---|
| Specifications Microorganism Name: Candida albicans Catalog Number: 0443 Lot Number: 443-1008** Reference Number: ATCC® 10231™** Purity: Pure Passage from Reference: 3 | Expiration Date: 2021/12/28 Release Information: Quality Control Technologist: Alexandra D Stensvad Release Date: 2019/11/18 |
| Performance | |
| Macroscopic Features: Small to medium, white, circular, convex, dull colonies. Microscopic Features: Gram positive, ovoidal, budding yeast cells. | Medium: Nutrient Method: Gram Stain (1) |
| ID System: MALDI-TOF (1) | Other Features/ Challenges: Results (1) Germ Tube Test: positive (1) Chlamydo-spore production: positive |
| See attached ID System results document. |  Amanda Kuperus Quality Control Manager AUTHORIZED SIGNATURE |
| <p>**Disclaimer: The last digit(s) of the lot number appearing on the product label and packing slip are merely a packaging event number. The lot number displayed on this certificate is the actual base lot number.</p> | |
| <p>Note for Vitek®: Although the Vitek® panel uses many conventional tests, the unique environment of the card, combined with the short incubation period, may produce results that differ from published results obtained by other methods.</p> | |
| <p>⚠ Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information.</p> | |
| <p>Individual products are traceable to a recognized culture collection.</p> | |
|  ACCREDITED REFERENCE MATERIAL PRODUCER CERT #2653.02 | |
| <p>(*) The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC. Microbiologics, Inc. is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures.</p> | |
|  ACCREDITED TESTING CERT #2655.01 (1) These tests are accredited to ISO/IEC 17025:2005. | |

Bruker Daltonik MALDI Biotyper Classification Results



Meaning of Score Values

| Range | Interpretation | Symbols | Color |
|-------------|-------------------------------------|---------|--------|
| 2.00 - 3.00 | High-confidence identification | (+++) | green |
| 1.70 - 1.99 | Low-confidence identification | (+) | yellow |
| 0.00 - 1.69 | No Organism Identification Possible | (-) | red |

Meaning of Consistency Categories (A - C)

| Category | Interpretation |
|----------|--|
| (A) | High consistency: The best match is a high-confidence identification. The second-best match is (1) a high-confidence identification in which the species is identical to the best match, (2) a low-confidence identification in which the species or genus is identical to the best match, or (3) a non-identification. |
| (B) | Low consistency: The requirements for high consistency are not met. The best match is a high- or low-confidence identification. The second-best match is (1) a high- or low-confidence identification in which the genus is identical to the best match or (2) a non-identification. |
| (C) | No consistency: The requirements for high or low consistency are not met. |

Sample Name: Candida albicans
 Sample Description: 0443
 Sample ID: 443-1006
 Sample Creation Date/Time: 2019-03-08T14:55:08.305 ADS
 Applied MSP Library(ies): BDAL, Mycobacteria Library (bead method), Filamentous Fungi Library, Listeria

| Sample Name | Sample ID | Organism (best match) | Score Value |
|--------------------|-----------|-----------------------|-------------|
| A2 (+++) (A) | 443-1006 | Candida albicans | 2.11 |

Comments:

n/a

Anexo 5. Base de datos recolectados en el estudio

Anexo 6. Evidencias del trabajo de campo



Figura 1. Obtención del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano)



Figura 2. Elaboración de la crema base y formulación con aceite esencial de orégano al 10% y 20%.

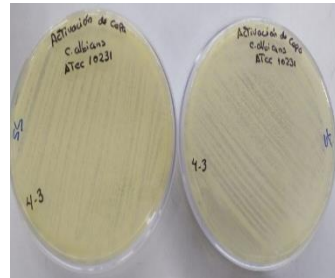


Figura 3. Reactivación y sembrado de la cepa de *Candida albicans* ATCC 10231