

**UNIVERSIDAD SAN PEDRO**  
**FACULTAD DE MEDICINA HUMANA**  
**PROGRAMA DE FARMACIA Y BIOQUIMICA**



**Efecto antimicótico del aceite esencial del *Origanum vulgare* L.  
“orégano” y *Rosmarinus officinalis* L. “romero”, sobre *Cándida*  
*albicans* ATCC 10231 in vitro**

**Tesis para optar el Título Profesional de  
Químico Farmacéutico**

**Autor:**

Rodriguez Paredes, Rubi Milena

**Asesor:**

Rubio López, Felipe Rubén

ORCID: 0000-0002-7588-0757

**Nuevo Chimbote – Perú**

**2023**

## INDICE DE CONTENIDOS

Índice de tablas .....	ii
Palabra clave.....	iii
Constancia de originalidad.....	iv
Título .....	v
Resumen .....	vi
Abstract.....	vii
Introducción.....	1
Metodología.....	14
Tipo y Diseño de investigación .....	14
Población - Muestra y Muestreo.....	15
Técnicas e instrumentos de investigación .....	16
Procesamiento y análisis de la información .....	20
Resultados.....	21
Análisis y discusión .....	29
Conclusiones.....	32
Recomendaciones .....	33
Referencias bibliográficas .....	34
Anexos.....	42

## INDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1</b>	Caracteres físicos y químicos del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> L. “orégano” .....	21
<b>Tabla 2</b>	Caracteres físicos y químicos del aceite esencial de <i>Rosmarinus officinalis</i> L. “romero”. .....	22
<b>Tabla 3</b>	Diámetros promedio de los Halos de Inhibición en la Evaluación de la Actividad Antifúngica del Aceites Esenciales de <i>Origanum vulgare</i> L., <i>Rosmarinus officinalis</i> L. y el fármaco patrón Nistatina contra <i>Cándida albicans</i> , cepa ATCC 10231.....	23
<b>Tabla 4</b>	Actividad antimicótica de las muestras del aceite esencial de <i>Rosmarinus officinalis</i> L. al 50, 75 y 100 % en cultivos de <i>Cándida albicans</i> ATCC 10231.....	24
<b>Tabla 5</b>	Actividad antimicótica de las muestras del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> L., al 50, 75 y 100 % en cultivos de <i>Cándida albicans</i> ATCC 10231.....	25
<b>Tabla 6</b>	Actividad antimicótica de las muestras del aceite esencial de <i>Rosmarinus officinalis</i> L. y <i>Origanum vulgare</i> L. al 50, 75 y 100 % en cultivos de <i>Cándida albicans</i> ATCC 10231.....	26
<b>Tabla 7</b>	Actividad antifúngica del aceite esencial <i>Rosmarinus officinalis</i> L. al 50, 75 y 100 % y el compuesto de referencia Nistatina en cultivos de <i>Cándida albicans</i> ATCC 10231 .....	27
<b>Tabla 8</b>	Actividad antifúngica del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> L. y de la sustancia patrón Nistatina en cultivos de <i>Cándida albicans</i> ATCC 10231. ....	28

## 1. Palabras clave

<b>Tema</b>	<i>Origanum vulgare</i> L., Nistatina, <i>Cándida albicans</i> . <i>Rosmarinus officinalis</i> L.
<b>Especialidad</b>	Microbiología

## Keywords

<b>Theme</b>	<i>Origanum vulgare</i> L., Nystatin, <i>Cándida albicans</i> . <i>Rosmarinus officinalis</i> L.
<b>Specialty</b>	Microbiology

## OCDE-Línea de investigación

<b>Línea de investigación</b>	Recursos naturales terapéuticos y fitoquímica
<b>Área</b>	Ciencias médicas y de salud
<b>Subárea</b>	Medicina básica
<b>Disciplina</b>	Farmacología y farmacia

## 2. Constancia de originalidad



# CONSTANCIA DE ORIGINALIDAD

El que suscribe, Vicerrector de Investigación de la Universidad San Pedro:

## HACE CONSTAR

Que, de la revisión del trabajo titulado "Efecto antimicótico del aceite esencial del *Origanum vulgare* L. ?orégano? y *Rosmarinus officinalis* L. ?romero?, sobre *Cándida albicans* ATCC 10231 *in vitro*" del (a) estudiante: **RODRIGUEZ PAREDES RUBI MILENA**, identificado(a) con Código N° **1314100006**, se ha verificado un porcentaje de similitud del **26%**, el cual se encuentra dentro del parámetro establecido por la Universidad San Pedro mediante resolución de Consejo Universitario N° 5037-2019-USP/CU para la obtención de grados y títulos académicos de pre y posgrado, así como proyectos de investigación anual Docente.

Se expide la presente constancia para los fines pertinentes.

Chimbote, 29 de noviembre de 2023

UNIVERSIDAD SAN PEDRO  
VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN



Dr. JAVIER MARTÍNEZ CARRIÓN  
VICERRECTOR



**NOTA:** Este documento carece de valor si no tiene adjunta el reporte del Software TURNITIN.

### **3.Título**

Efecto antimicótico del aceite esencial del *Origanum vulgare* L. “orégano” y *Rosmarinus officinalis* L. “romero”, sobre *Cándida albicans* ATCC 10231 in vitro

#### 4. Resumen

La investigación actual se propuso evaluar la eficacia antifúngica del aceite esencial de *Origanum vulgare* L. y *Rosmarinus officinalis* L. frente a cepas de *Cándida albicans* ATCC 10231, comparándolas con los resultados obtenidos utilizando Nistatina. La extracción del aceite esencial se llevó a cabo mediante destilación por arrastre con vapor de agua en un enfoque experimental. Se prepararon muestras con concentraciones del 50%, 75% y 100%. Cada muestra se enfrentó a *Cándida albicans* mediante el método de Kirby Bauer, se registraron los resultados mediante la medición de los halos de inhibición. A una concentración del 50%, el aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* L. mostró una actividad antifúngica baja contra *Cándida albicans*, siendo de actividad intermedia al 75% y de actividad alta al 100%. En comparación, el aceite esencial de *Origanum vulgare* L. al 50% exhibió una actividad antifúngica baja, con actividad intermedia al 75% y alta al 100%. Se observó que el aceite esencial de *Origanum vulgare* L. tuvo un efecto antifúngico superior al de *Rosmarinus officinalis* L. Además, a una concentración del 75%, el aceite esencial de *Origanum vulgare* L. demostró una eficacia similar a la Nistatina, y al 100%, superó en eficacia a la Nistatina contra *Cándida albicans*.

**Palabras claves:** *Cándida albicans*, *Origanum vulgare*, Efecto antimicótico, *Rosmarinus officinalis*, Nistatina,

## 5. Abstract

The current research aimed to evaluate the antifungal efficacy of the essential oil of *Origanum vulgare* L. and *Rosmarinus officinalis* L. against strains of *Candida albicans* ATCC 10231, comparing them with the results obtained using Nystatin. The extraction of essential oil was carried out by steam distillation in an experimental approach. Samples with concentrations of 50%, 75% and 100% were prepared. Each sample was challenged with *Candida albicans* using the Kirby Bauer method, the results were recorded by measuring the inhibition zones. At a concentration of 50%, the essential oil of *Rosmarinus officinalis* L. showed low antifungal activity against *Candida albicans*, with intermediate activity at 75% and high activity at 100%. In comparison, 50% *Origanum vulgare* L. essential oil exhibited low antifungal activity, with intermediate activity at 75% and high activity at 100%. It was observed that the essential oil of *Origanum vulgare* L. had a higher antifungal effect than that of *Rosmarinus officinalis* L. Furthermore, at a concentration of 75%, the essential oil of *Origanum vulgare* L. demonstrated similar efficacy to Nystatin, and at 100% %, surpassed Nystatin in effectiveness against *Candida albicans*.

**Keywords:** *Candida albicans*, *Origanum vulgare*, Antifungal effect,  
*Rosmarinus officinalis*, Nystatin,

## 6.Introducción

### Antecedentes y fundamentación científica

Aytaç et al., (2022), en su artículo “El ácido húmico mejora el rendimiento de las plantas, la actividad antimicrobiana y la composición del aceite esencial del orégano (*Origanum vulgare* L. subsp. *hirtum* (Link.) Ietswaart)” demuestra que la actividad antimicrobiana de las muestras de aceite esencial contra dos especies de bacterias (*Enterococcus faecalis* y *Staphylococcus aureus*) y dos especies de levaduras (*Cándida albicans* y *Candida parapsilosis*) fue generalmente más alta que la de los medicamentos de control, y que dicha actividad tiene un aumento directamente proporcional a la dosis de ácido húmico usada durante el cultivo. Del análisis de la composición química del aceite esencial infieren que las proporciones de carvacrol y  $\gamma$ -terpineno generalmente aumentaron a medida que las dosis de ácido húmico aumentaron a 50,0 L hectárea.

Stringaro et al., (2022), en un reporte preliminar y no impreso, cuyo tema fue la Evaluación in vitro y preclínica de la actividad del aceite esencial de *Origanum vulgare* y sus dos compuestos fenólicos sobre *Candida* spp. afirman que actualmente se dispone de un arsenal terapéutico limitado contra las infecciones por miembros del género *Cándida*, agentes infecciosos que muestran una alta resistencia a los agentes antifúngicos. Por este motivo, existe una gran necesidad de priorizar el ensayo de agentes terapéuticos para el tratamiento de la candidiasis. El uso de aceites esenciales y sus fitoconstituyentes se ha enfatizado como un nuevo enfoque terapéutico. La hidrofobicidad de la superficie celular (CSH), el contenido de polisacáridos, el efecto antimicrobiano del aceite esencial de *Origanum vulgare* L. y sus principales compuestos fenólicos, carvacrol y timol, se evaluaron en cuatro diferentes especies de *Cándida albicans* y especies emergentes de *Cándida* no *albicans* (NAC) como *Cándida glabrata*, *Cándida tropicalis* y *Cándida krusei*. Los resultados mostraron las profundas diferencias entre las especies de *Cándida*; por ejemplo, *C. tropicalis* reveló mayor resistencia que otras cepas a diferentes tratamientos con moléculas naturales. Las variabilidades ultraestructurales en las biomembranas y paredes celulares de estas *Cándidas* spp. podría explicar los diferentes efectos biológicos observados después de los tratamientos con este aceite

esencial, carvacrol y timol. Los autores demostraron tanto la seguridad de estos compuestos bioactivos como sus actividades antimicrobianas relevantes contra estas cuatro cepas de *Cándida*.

Elyemni et al., (2022), en su publicación sobre la composición química y la actividad antimicrobiana del aceite esencial de la especie *Rosmarinus officinalis* silvestre y cultivado en 2 localidades de Marruecos, dan a conocer el impacto de la procedencia en el rendimiento, el perfil químico y la actividad antimicrobiana del aceite esencial de ambas muestras, es decir de la muestra de Fez y de la muestra de Figuig. En cuanto a la actividad antimicrobiana se investigó la actividad sobre cuatro cepas bacterianas y dos mohos. El aceite esencial obtenido de cada una de las muestras, mostró una buena actividad antimicrobiana contra todas las cepas microbianas, destacando que el aceite esencial producido por las plantas de Fez fue el más efectivo contra los microorganismos seleccionados con valores de MIC de 0,315–2,5 mg/L.

Ez-Zriouli et al., (2022) en su artículo de revisión sobre la composición química y la actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Mentha pulegium* y *Rosmarinus officinalis* frente a microbios multirresistentes y el estudio de toxicidad aguda, reportan que el contenido promedio de aceite esencial fue de 3.2 y 2.5% para *Mentha pulegium* y *Rosmarinus.officinalis*, respectivamente. La caracterización química mostró una riqueza en algunos compuestos identificados como R(+)-Pulegone (45,48 %), Mentona (14,2 %), Piperitona (8,15 %) e Isometona (7,18 %). % en *M. pulegium* y 1,8-Cineol (46,32%), Canfeno (13,4%) y  $\alpha$ -Pino (9,52%) en *R. officinalis*; y que estos metabolitos mostraron un efecto antimicrobiano significativo contra las cepas probadas (bacterias y levaduras aisladas del ambiente hospitalario) en comparación con los antibióticos sintéticos que parecen ser ineficaces contra los microorganismos resistentes. Basados en la concentración letal LD50 >5,000 mg/kg (peso corporal), encontraron que el aceite es marginalmente seguro de acuerdo con las pautas de la OCDE y puede explorarse más a fondo (bioproducto con bajo riesgo).

Meccati et al., (2022) analizaron el potencial antibiofilm del extracto de *R. officinalis* L. sobre *Cándida. albicans*, *Cándida krusei*, *Cándida tropicalis* *Cándida dubliniensis* y *Cándida glabrata*., Las biopelículas formadas in vitro durante 48 h

fueron expuestas a diferentes concentraciones del extracto vegetal (50, 100 y 200 mg/mL) durante 5 min o 24 h. y se comparó el efecto del extracto natural con el antifúngico comercial nistatina. Los porcentajes de reducción proporcionados por el extracto vegetal fueron significativamente similares a los de la nistatina, En resumen, se determinó que el extracto de *R. officinalis* L. exhibió propiedades antibiopelícula frente a cepas de *Cándida* spp., de manera equiparable a la acción antifúngica de la Nistatina comercial.

En un estudio llevado a cabo por Pérez Delgado y Vallejos Campos en 2019, investigadores afiliados a la Universidad Señor de Sipan, se llevó a cabo una evaluación de la capacidad antifúngica in vitro del extracto crudo acuoso de *Rosmarinus officinalis* frente a *Cándida albicans*. La investigación adoptó un enfoque experimental que comprendió un total de 60 unidades experimentales. Estas unidades incluyeron seis concentraciones distintas del extracto acuoso de *Rosmarinus officinalis* y se emplearon dos cepas de *Cándida albicans*, con cada experimento repetido en cinco ocasiones. Para evaluar la actividad antifúngica, se recurrió al método de difusión en pozo en agar Mueller-Hinton después de realizar una dilución doble seriada para obtener diferentes concentraciones del extracto. Los resultados obtenidos indicaron que al exponer a *Cándida albicans* al extracto crudo acuoso, se observaron zonas de inhibición para concentraciones de 40 y 20 mg/mL, mostraron medidas promedio de 21.12 mm y 16.08 mm, respectivamente. En cuanto a la otra cepa, el diámetro promedio de las zonas de inhibición para concentraciones de 40, 20 y 10 mg/mL fueron de 10.35 mm, 8.43 mm y 7.21 mm, respectivamente. En conclusión, los investigadores afirmaron que el extracto crudo acuoso de las hojas de *R. officinalis* demostró tener un efecto antifúngico contra *Cándida albicans*.

En un estudio realizado Vásquez (2019), este autor examinó minuciosamente la actividad antibacteriana del extracto acuoso de *Origanum vulgare* L. contra el *Streptococcus mutans*. La muestra comprendía 14 placas Petri que albergaban bacterias, con discos de papel inoculados con el extracto acuoso de *Origanum vulgare* L. en concentraciones del 10, 50 y 100%. Para evaluar la acción antibacteriana, se midieron en milímetros los diámetros de los discos utilizando un calibrador digital. Los resultados revelaron que las tres concentraciones bajo

estudio demostraron actividad antimicrobiana contra el *Streptococcus mutans*, evidenciando halos de inhibición promedio de 6,18 mm, 7,81 mm y 8,63 mm respectivamente. La diferencia de promedios entre estas concentraciones resultó ser estadísticamente significativa ( $P < 0.05$ ). Este hallazgo sugiere que el extracto acuoso de *Origanum vulgare* L. exhibe una clara capacidad para inhibir el crecimiento del *Streptococcus mutans*, destacando la prometedora naturaleza antibacteriana de este compuesto.

En su investigación llevada a cabo por Neira, 2018, este investigador se enfocó en evaluar el efecto antimicrobiano de los extractos etanólicos de plantas medicinales utilizadas por residentes de Chiguata, Quequeña y Tuctumpaya, frente a *Streptococcus pneumoniae* y *Staphylococcus aureus*. A través de entrevistas con los habitantes, se seleccionaron cuatro especies vegetales para el estudio. La técnica empleada fue la difusión en disco de Kirby Bauer, la cual permitió determinar el efecto antibacteriano de estos extractos, siendo la Amikacina utilizada como control positivo y el Dilmetil sulfóxido como control negativo. Los resultados obtenidos indicaron que los extractos de *Origanum vulgare* y *Rosmarinus officinalis* exhibieron una mayor eficacia, mientras que *Clinopodium bolivianum* y *Artemisia abrotanum* mostraron un efecto antibacteriano menor. La concentración mínima inhibitoria del Romero para *Staphylococcus aureus* fue de 3,75 mg/ml y para *Streptococcus pneumoniae* fue de 1,875 mg/ml. En el caso del Orégano, la concentración mínima inhibitoria para *Staphylococcus aureus* fue de 1,875 mg/ml y para *Streptococcus pneumoniae* fue de 0,9375 mg/ml. Estos resultados sugieren que los extractos de *Rosmarinus officinalis* y *Origanum vulgare* podrían ser considerados como agentes antimicrobianos efectivos, demostrando un potencial significativo en la lucha contra *Streptococcus pneumoniae* y *Staphylococcus aureus*.

En la investigación realizada por Vilca, (2019), se examinó detalladamente el efecto antibacteriano del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) proveniente de Otuzco sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175. El estudio experimental in vitro implicó la extracción y preparación de muestras de aceite esencial a las concentraciones del 10, 25 y 50 %. La concentración al 10 % reveló

un halo de inhibición promedio de 12.15 mm, mientras que el 25 % presentó un halo de 16.38 mm y el 50 % exhibió un halo de 20.00 mm. Al llevar a cabo el análisis estadístico, se evidenció una diferencia significativa entre las concentraciones ( $p < 0.05$ ). En consecuencia, se concluyó que el *Origanum vulgare* al 50% posee un efecto antibacteriano más pronunciado en comparación con las otras concentraciones evaluadas. Este resultado sugiere que el aceite esencial de *Origanum vulgare*, especialmente en una concentración del 50 %, podría ser considerado como un agente efectivo en la inhibición de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, destacando su potencial relevancia en aplicaciones antimicrobianas.

En su tesis de grado, Solano Rojas (2018) realizó una experiencia in vitro con el propósito de evaluar la capacidad antifúngica del aceite volátil extraído de las hojas de *Rosmarinus officinalis* L. en comparación con el fluconazol, frente a la cepa comercial de *Cándida albicans*. El autor preparó el aceite volátil en muestras al 25, 50, 75 y 100 %, Fluconazol a 25  $\mu\text{g}$  y un control neutro con DMSO, replicando cada grupo de estudio en 10 ocasiones. Los resultados indicaron que el aceite volátil de las hojas de *Rosmarinus officinalis* L. generó halo de inhibición para las diluciones al 75 y 100 %, con diámetro promedio de 12,7 y 14,7 mm respectivamente. Estos valores no cumplieron con el criterio efectivo establecido por el CLSI ( $>19$  mm) y fueron menores que el halo de inhibición producido por el fluconazol, que alcanzó los 25,8 mm. El análisis estadístico ANOVA demostró una alta significancia en los resultados (0.000), y la prueba de Tukey indicó homogeneidad entre los grupos evaluados, destacando que el grupo tratado con fluconazol exhibió un efecto antifúngico superior. Se observó que conforme aumentaba la concentración del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis*, también aumentaba el tamaño de la zona de inhibición. En resumen, se concluyó que el aceite esencial extraído de las hojas de *Rosmarinus officinalis* L. presenta una actividad antifúngica contra *Cándida albicans* ATCC 10231. Sin embargo, este efecto es inferior en comparación con el fluconazol, sugiriendo que podría considerarse como un complemento terapéutico en el tratamiento de las infecciones por *Cándida albicans*.

En el estudio llevado a cabo por Carhuas, (2018), se examinó el impacto antimicrobiano de los aceites esenciales de *Origanum vulgare* (Orégano), *Menta*

*piperita* (Menta), y *Cymbopogon citratus* (Hierba Luisa) sobre *Lactobacillus acidophilus* y *Streptococcus mutans*. En el entorno in vitro, se preparó un inóculo con una turbidez de 0,5 Mc Farland y se sembró en 72 placas de Petri. Posteriormente, se colocaron discos estériles sobre la siembra y se midieron los halos de inhibición correspondientes. Los diámetros de los halos de inhibición fueron los siguientes:  $20,02 \pm 5,09$  mm para *O. vulgare*,  $12,19 \pm 0,86$  mm para *Mentha piperita* y  $20,94 \pm 2,11$  mm para *Cymbopogon citratus*. No se observaron diferencias significativas ( $p > 0,05$ ) entre los diversos grupos de estudio. En particular, el aceite volátil de *Cymbopogon citratus* exhibió un halo de inhibición mayor sobre *Lactobacillus acidophilus* y *S. mutans* en comparación con los aceites volátiles de *O. vulgare* y *M. piperita*, aunque estas diferencias no fueron estadísticamente significativas.

### **Marco teórico**

El creciente interés a nivel mundial en la utilización de plantas medicinales ha llevado a un redescubrimiento de sus efectos beneficiosos, sirviendo como base para el desarrollo de nuevos fármacos. Gracias a sus diversas aplicaciones no farmacológicas, que han inspirado investigaciones actuales en la búsqueda de compuestos medicinales, los productos naturales se presentan como valiosas fuentes de información para abordar diferentes objetivos farmacológicos. A lo largo de la historia, las poblaciones indígenas han empleado plantas medicinales en todo el mundo, desempeñando un papel crucial en el tratamiento de enfermedades tanto humanas como animales. En tiempos más recientes, la mayoría de los fármacos modernos han surgido a partir de compuestos aislados de plantas medicinales, basándose en sus aplicaciones etnofarmacológicas. El papel de los productos naturales en el desarrollo de medicamentos no solo se limita al uso directo de compuestos bioactivos como agentes terapéuticos, sino que también abarca su utilización como materia prima para la síntesis de fármacos o como modelos para la creación de nuevos compuestos biológicamente activos. Sin embargo, la validación y aplicación de las plantas como fitofármacos requiere una extensa investigación tanto básica como aplicada, con el fin de equiparar este recurso con la importancia de los productos farmacéuticos convencionales. Es importante destacar que solo alrededor del 10% de las aproximadamente 250,000 especies de plantas estimadas en todo el

mundo han sido objeto de estudio científico para determinar su posible utilidad en el ámbito de la salud. Además, se estima que cerca de 60,000 especies podrían extinguirse para el año 2050, subrayando la urgencia de buscar nuevos compuestos con potencial terapéutico (Andrade et al., 2018).

El *Origanum vulgare*, una especie originaria del Mediterráneo europeo, tiene sus primeras menciones en crónicas helenísticas, aunque su uso posiblemente se remonte a comunidades prehistóricas. Los romanos lo incorporaron en la preparación de sus platos, a veces combinándolo con el potente sabor del garum originario de la colonia romana de Carthago Nova. La población antigua reconocía las propiedades curativas del orégano, utilizándolo para tratar trastornos nerviosos, contusiones, retención de líquidos y dolores articulares. Durante la Edad Media, se empleó para abordar problemas hepáticos y como desinfectante en epidemias, quemándolo junto con ramas de menta y tomillo. Con el descubrimiento de América, los colonizadores llevaron semillas de orégano para cultivarlas en tierras sudamericanas, adaptándose con rapidez al nuevo entorno climático. En el caso del Perú, los españoles introdujeron el orégano, y en la actualidad, se encuentra en las zonas interandinas, especialmente en el sur del país (Tellez, 2017).

Según Acosta et al, (2017); Chapa, (2018) la clasificación taxonómica del orégano es la siguiente:

- Reino: *Plantae*,
- División: *Tracheophyta*,
- Clase: *Magnoliopsida*,
- Sub Clase: *Asteranae*,
- Orden: *Lamiales*,
- Familia: *Lamiaceae*,
- Sub familia: *Nepetoideae*,
- Género: *Origanum L.*,
- Especie: *Origanum vulgare L.*

*Origanum vulgare* L es planta que tiene su origen en Europa y Asia, que se adapta a cualquier tipo de clima, pero crece de espontáneamente en lugares Radiantes y desérticos hasta 2000 msnm. Además, crece en suelos poco fértiles, y en cualquier tipo de terreno, siempre y cuando sea rico en materia orgánica, de preferencia en los suelos franco arenosos y Se cultiva en diferentes países en zonas templadas por sus propiedades aromáticas y terapéuticas (Mendoza y Vásquez, 2019; Sánchez, 2017; Schovelin, 2018).

*Origanum vulgare* L es una planta que puede alcanzar una altura de hasta 80 cm. Sus tallos son rectos, cubiertos de vellosidades y emanan un aroma característico. Las hojas son de forma ovalada, tienen pecíolos, y pueden presentar márgenes dentados o ser enteras. Las flores, que pueden ser de color rosa, violeta o blanco, tienen un diámetro de hasta 7 mm y se caracterizan por estambres prominentes (Tellez, 2017).

En *Origanum vulgare* L, se identifican componentes activos fundamentales, tales como el carvacrol y el timol. Además, se encuentran presentes el pineno, selineno, dipenteno, cimol, terpenos,  $\alpha$ -terpineno, ácidos polifenólicos como el ácido cafeico, ácido ursólico, ácido rosmarínico, ácido clorogénico, principios amargos, algunos flavonoides y taninos, entre los que se incluyen el kaemferol, lutenol, diosmetol, y derivados de apigenol (Abalco, 2020).

El orégano se utiliza con propósitos antisépticos, antifúngicos, antibacterianos, antivirales, expectorantes, así como antiinflamatorios, diuréticos, antiespasmódicos, sedantes, antirreumáticos y para aliviar dolores musculares, otalgias y odontalgias, entre otros beneficios. Además, diversos estudios han investigado la actividad antimicrobiana de extractos de diferentes variedades de orégano, como se ha señalado en investigaciones realizadas por Mamani (2017) y Schovelin (2018).

*Rosmarinus officinalis* L. es una planta medicinal perteneciente a la familia Lamiaceae, comúnmente conocida como romero. Además de su uso en la cocina gracias a su distintivo aroma, esta planta es ampliamente empleada por las poblaciones indígenas en su estado silvestre. El romero forma parte de la familia Lamiaceae, una de las familias de plantas con flores más extensas y destacadas, que engloba aproximadamente 236 géneros y entre 6900 y 7200 especies en todo el

mundo. Aunque originalmente la familia se denominaba Labiatae debido a que las flores solían tener pétalos fusionados en labios superior e inferior, hoy en día, la mayoría de los botánicos prefieren el nombre Lamiaceae. La familia Lamiaceae es reconocida por sus aceites volátiles biológicamente activos, presentes en muchos de sus miembros, así como por sus hierbas ornamentales y especias culinarias como albahaca, lavanda, menta, romero, salvia y tomillo. Diversos estudios han identificado una amplia variedad de compuestos en las plantas de esta familia, como terpenos, iridoides, flavonoides y compuestos fenólicos. El ácido rosmarínico, un ácido fenólico abundante en estas plantas exhibe propiedades antibacterianas, antivirales, antioxidantes y antiinflamatorias. Esta familia incluye especies con altos niveles de ácidos fenólicos, como el ácido rosmarínico, que ha demostrado tener propiedades antivirales, antibacterianas, antioxidantes y antiinflamatorias. Numerosos estudios experimentales respaldan la eficacia de algunas de las aplicaciones tradicionales de estas plantas. Los extractos del romero se usan como antioxidantes naturales, alargando la vida útil de alimentos perecederos. De hecho, la Unión Europea ha aprobado al E392 (extracto de romero) como un antioxidante natural eficaz y seguro para la conservación de alimentos (Andrade et al., 2018).

*Cándida albicans* es un hongo de levadura común de las superficies mucosas orales, gastrointestinales y genitales humanas y de la piel. La disbiosis inducida por antibióticos, la inmunosupresión iatrogénica y/o las intervenciones médicas que deterioran la integridad de la barrera mucocutánea y/o perturban los mecanismos protectores de defensa del huésped permiten que *C. albicans* se convierta en un patógeno oportunista y cause una enfermedad mucocutánea sistémica debilitante y/o potencialmente mortal. Infecciones sistémicas. (Lopes & Lionakis, 2021)

Como uno de los reinos eucariotas más grandes, los hongos tienen una variedad de patrones de ciclo de vida con adaptaciones en el metabolismo y la morfogénesis que les permiten adaptarse a los ecosistemas cambiantes. A pesar de que se estima que este reino cuenta con una población que oscila entre 1,5 a 5 millones de especies diferentes de hongos, solo unos pocos cientos de ellos pueden causar enfermedades clínicas en humanos. El phylum Ascomycota contiene algunos de los patógenos humanos más exitosos; estos incluyen hongos virulentos que pueden infectar a individuos sin compromiso inmunológico, como las especies

*Histoplasma*, *Blastomyces*, *Coccidioides* y *Paracoccidioides*, así como hongos oportunistas que causan enfermedades principalmente en individuos inmunodeprimidos, como las especies *Aspergillus*, *Fusarium*, *Scedosporium* y *Cándida*. (Lopes & Lionakis, 2021)

*Cándida albicans* es un hongo de naturaleza diploide en su forma asexual (levadura), esta especie pertenece a la familia de los Saccharomicetos y de naturaleza saprófita. Comúnmente presente en la cavidad oral, el tracto gastrointestinal y la vagina, la *Cándida* desempeña un papel esencial en la fermentación y digestión de azúcares. La célula de *Cándida albicans* se manifiesta como una forma levaduriforme ovalada de 3-8 x 2-7 micras aproximadamente, con paredes delgadas. Sin embargo, en tejidos infectados, se han observado diversas formas filamentosas con longitudes variables, presentando extremos redondos de 3 a 5 micras de diámetro. A nivel microscópico, todas las especies de *Cándida* comparten una apariencia similar, y todas las levaduras son Gram positivas (Quispe Castrejón & Torrel Ramos, 2022).

El género *Cándida* reside de manera simbiótica en el microbiota de la mucosa reproductiva y gastrointestinal del 50-70% de individuos sanos aproximadamente. No obstante, bajo condiciones particulares, estos microorganismos pueden adquirir características patógenas, llegando a convertirse en la tercera causa más común de septicemia a nivel global. Estos hongos tienen la capacidad de ocasionar infecciones superficiales que afectan membranas mucosas y la piel, así como infecciones invasivas en órganos y tejidos profundos, como los pulmones, intestinos y la sangre. La especie más frecuentemente aislada en infecciones relacionadas con el género es *Cándida albicans*. No obstante, se observa cada vez más el aislamiento de especies no albicans de *Cándida*, como *Cándida glabrata*, *Cándida krusei*, *Cándida tropicalis* y *Cándida parapsilosis*. Es importante destacar que se ha informado un aumento en la resistencia a agentes antifúngicos de uso clínico, tanto en cepas de *Cándida albicans* como en cepas no albicans, lo que complica el tratamiento de las infecciones causadas por estas variedades (Rocha et al., 2021).

La técnica ampliamente utilizada para extraer aceites volátiles de diversas especies vegetales es el proceso de destilación por arrastre de vapor de agua. En este método, el vapor de agua entra en contacto con la materia vegetal, liberando la esencia y transportando consigo el aceite esencial. Posteriormente, los vapores se enfrían en un condensador, recuperando su estado líquido y generando un destilado en forma líquida, compuesto por dos fases inmiscibles: la fase acuosa, conocida como hidrolato, y la fase orgánica, que constituye el aceite volátil. La diferencia de densidad entre ambas fases permite la separación de los componentes mediante decantación, resultando en la obtención del aceite esencial en su forma pura (Casado, 2018; Cedeño et al., 2019).

### **Justificación de la investigación**

Justificación teórica, los resultados obtenidos del estudio y la confirmación de que uno o los 2 aceites esenciales tienen efecto antimicótico sobre *Candida albicans* aportan más datos a la ya existente, lo cual servirá de fundamento para nuevo conocimiento, teorías y solución de candidiasis multirresistente. Considerando, la posibilidad de servir a otros estudios en el futuro.

La justificación metodológica se fundamenta en que proporcionará una herramienta para recopilar información asociada a la evaluación del impacto antifúngico derivado del aceite volátil extraído tanto de *Origanum vulgare* L. comúnmente conocido como orégano y de *Rosmarinus officinalis* L. comúnmente conocido como romero, en relación con *Candida albicans*.

Justificación Social, el estudio y la confirmación de que uno o los 2 aceites esenciales tienen efecto antimicótico sobre *Candida albicans* deja abierta la posibilidad de que el gran grupo de personas con candidiasis multirresistente se podrían beneficiarse con los resultados de la investigación.

### **Problema**

¿Cuál será el efecto sobre *Candida albicans* ATCC 10231 “in vitro”, provocado por los aceites esenciales provenientes de *Origanum vulgare* L. y *Rosmarinus officinalis* L.

## Conceptualización y operacionalización de las variables

Definición conceptual	Dimensiones	Indicadores	Escala de medición
<p><b>VI:</b>  <b>Aceite esencial:</b> aceite volátil o esencia, es una sustancia aromática de origen natural que le da el olor o fragancia a las flores y a otros órganos de la planta. Generalmente se obtiene mediante arrastre en vapor de agua, euffleurage y expresión (en los cítricos) (López Luengon, 2004)</p>	<p>Diluciones:</p> <p>Dilución 1</p> <p>Dilución 2</p> <p>Puro</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Muestra 1* al 50 %</li> <li>• Muestra 2* al 75 %</li> <li>• Muestra 3* al 100 %</li> </ul>	Ordinal
<p><b>VD:</b>  <b>Actividad antimicótica:</b> Capacidad de las sustancias químicas frente a este tipo microorganismos (hongos) responsables de muchas enfermedades conocidas como micosis (Bonifaz Trujillo, 2015)</p>	<p>Diámetro del halo de inhibición</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Sumamente sensible</li> <li>• Muy sensible</li> <li>• Sensible</li> <li>• Nula</li> </ul>	<p>Diámetro del Halo de Inhibición</p> <p>Mayor de 20 mm</p> <p><math>&gt;14 \leq 20\text{mm}</math></p> <p><math>&gt;8\text{mm} \leq 14\text{mm}</math></p> <p><math>&lt; 8\text{mm}</math></p>	De intervalo

\*Muestras 1, 2 y 3 son las diluciones del aceite esencial de cada una de las plantas en estudio

### Hipótesis

De acuerdo con la literatura consultada que reporta que la mayoría de los aceites esenciales tienen efecto antimicrobiano sobre bacterias, hongos y virus. El aceite volátil de ambas especies en investigación, como son *Origanum vulgare* L. y *Rosmarinus officinalis* L. debe tener una acción antimicótica importante sobre sobre *Candida albicans* ATCC 10231 *in vitro*.

## Objetivos

### Objetivo general:

Evaluar la capacidad antimicótica in vitro de los aceites esenciales extraídos de *Origanum vulgare* L. y *Rosmarinus officinalis* L. contra la cepa de *Cándida albicans* ATCC 10231.

### Objetivos específicos:

- 1) Extraer y caracterizar los aceites volátiles de *Origanum vulgare* L. y *Rosmarinus officinalis* L.
- 2) Elaborar diluciones al 50, 75 y 100 % de los aceites esenciales obtenidos de *Origanum vulgare* L. y *Rosmarinus officinalis* L.
- 3) Llevar a cabo el aromagrama utilizando cada una de las diluciones de los aceites esenciales de *Origanum vulgare* L. "orégano" y *Rosmarinus officinalis* L. en cepas de *Cándida albicans* ATCC 10231.
- 4) Realizar el antibiograma con Nistatina sobre cepas de *Cándida albicans* ATCC 10231 in vitro
- 5) Evaluar y contrastar la actividad antimicótica del aceite esencial de *Origanum vulgare* L. y *Rosmarinus officinalis* L. en comparación con la nistatina, específicamente sobre la cepa ATCC 10231 de *Cándida albicans*.

## 7. Metodología

### a. Tipo y Diseño de investigación

#### Tipo de investigación:

**Básica:** Muy conocida como investigación pura, teórica o dogmática. Nuestra investigación busca incrementar los conocimientos científicos sobre la existencia de una sustancia que puede eliminar a un hongo tan resistente a los tratamientos convencionales, pero sin llevarlos al aspecto práctico que es usarlos en el tratamiento de personas afectadas con candidiasis. (Muntané Relat, 2010)

**Experimental:** En nuestro estudio los resultados son producto de la intencionalidad de la propuesta científica de recrear en el laboratorio el enfrentamiento entre el microorganismo y un potencial antimicótico, donde claramente se produce la intervención del investigador para obtener conclusiones. Se cumple el hecho que Este tipo de investigación es un estudio in vitro. (Muntané Relat, 2010)

#### Diseño de investigación:

La investigación de tipo experimental posibilita la manipulación deliberada de las variables independientes para analizar la variable dependiente, según lo indicado por Hernández et al. (2006), utilizando repeticiones múltiples y llevando a cabo una postprueba.

Grupo 1	Est. 1	Obs 1
Grupo 2	Est. 2	Obs 2
Grupo 3	Est. 3	Obs 3
Grupo 4	Est. 4	Obs 4
Grupo 5	Est.5	Obs 5

Donde:

- Est. 1: Aceite esencial de al 100%
- Est. 2: Aceite esencial de al 75%
- Est. 3: Aceite esencial de al 50%
- Est. 4: Nistatina (Control positivo)
- Est. 5: Solución salina Fisiológica (Control negativo)
- Obs.: Observación (diámetro halo de inhibición)

## b) Población, muestra y muestreo

### Población

Se define como un conjunto de personas, maquinas, elementos, eventos, etc de interés del investigador (Arias, et al., 2016). En esta investigación la población estuvo conformada por la totalidad cepas obtenidas por cultivo de la cepa comercial de *Cándida albicans* (cepa ATCC 10231).

### Criterios de inclusión

1. Solo las cepas obtenidas a partir de la cepa comercial de *Cándida albicans* (cepa ATCC 10231).
2. Solo se trabajó con hojas de las plantas orégano y romero, que muestren cumplir con el criterio de calidad.

### Criterios de exclusión

1. Se excluyeron lo que nos son *cándida albicans* ATCC 10231.
2. Se excluyeron las hojas de orégano y romero que no cumplan con el criterio de calidad.

### Muestra

La muestra de trabajo estuvo compuesta por todos los elementos escogidos a partir de la población (cultivo del hongo en estudio), los cuales fueron escogidos según si cumplen con los criterios de inclusión y exclusión. Teóricamente, se cumple con el hecho que la cantidad de elementos elegidos es representativa y que se puede definir con precisión sus características durante el diseño del plan de investigación (Hernández, et al., 2014).

- 24 placas de Petri inoculadas con *cándida albicans* ATCC 10231
- 5 kilogramos de planta completa de *Origanum vulgare* L.
- 5 kilogramos de planta completa de *Rosmarinus officinalis* L “romero”.

### **Método de selección de la muestra:**

De acuerdo con Kinneer y Taylor (1998), este análisis optó por utilizar un enfoque de muestreo probabilístico, dado que todos los elementos considerados tenían la oportunidad de ser escogidos y formar parte integral del estudio.

### **c) Técnicas e instrumentos de investigación:**

En este estudio la observación es la técnica de investigación y el instrumento de investigación ha sido la ficha de recolección de datos, la que se fue llenando conforme se obtenían los resultados de las pruebas ejecutadas durante la investigación.

### **Obtención del aceite esencial:**

#### **Destilación por arrastre de vapor.**

Se ejecutó la técnica siguiendo las indicaciones de Mendoza Rezza et al., (2021)

- Se utilizó el equipo de destilación.
- Se colocó 4 litros de agua destilada en la cámara generadora de vapor.
- En la cámara de extracción se colocó 4 kilogramos de la planta a trabajar (orégano o romero).
- Con un mechero bunsen se calentó el agua presente en la cámara generadora de vapor hasta ebullición, para obtener el vapor de agua, el cual ingresó en la cámara de extracción, arrastrando a su paso al aceite volátil, el cual fue inmediatamente arrastrado por la corriente de vapor de agua por un proceso de codestilación.
- El producto de la destilación se recibió en embudo de decantación, en donde se observó la formación de 2 capas inmiscibles muy bien definidas.
- La capa superior de color amarillento es el aceite esencial y la capa inferior es la fase acuosa y se llama hidrolato.

- Para evitar el rebasamiento del aceite esencial en el embudo de decantación, la salida del hidrolato se regula tratando que sea la misma cantidad de gotas que entran al embudo sean las mismas que la cantidad de gotas que salen del embudo.
- Terminada la destilación se dejó en reposo el embudo con su contenido para lograr una buena separación de las 2 fases.
- A continuación, se procedió a obtener el aceite esencial, para lo cual primero se obtuvo el hidrolato controlando la separación mediante la lleve del embudo de decantación|, para en un segundo momento extraer el aceite esencial en un vaso de precipitados de capacidad apropiada.
- Al aceite esencial contenido en el vaso de precipitación, se le agregó sulfato de sodio anhidro (cantidad apropiada) para eliminar el agua residual (secado del aceite volátil).
- El aceite volátil se almacenó en un frasco de vidrio ámbar.
- El aceite esencial se conservó en refrigeración y al abrigo de la luz hasta el momento de su utilización en las diferentes pruebas.

#### **Preparación de las diluciones de cada aceite esencial:**

Las diluciones de los aceites esenciales, *Origanum vulgare* L. y *Rosmarinus officinalis* L., sujetos a experimentación, se prepararon de acuerdo con Castañeda Matute, (2019)

- Para la dilución de 50% se mezclaron 0.5 mL en 0.5 mL de DMSO.
- Para la dilución del 75% se mezclaron 0.75 mL de AE en 0.25 mL de DMSO.
- La Dilución al 100 % corresponde al aceite esencial puro.

#### **Preparación del Agar Mueller Hinton**

Este medio de cultivo es de naturaleza solida recomendado para pruebas de susceptibilidad de microorganismos patógenos. Su elaboración se realizo siguiendo las instrucciones del fabricante (Merck, 2023)

- 38 gramos de Agar Mueller Hinton fueron disueltos en 1 Litro de agua destilada en un matraz Erlenmeyer de 1 Litro de capacidad. Para este ensayo se adicionaron 50 uL de azul de metileno y 20 gramos de glucosa
- Se llevo a calentamiento agitando suavemente y dejando hervir durante un minuto.
- Se acondicionó colocando un algodón en la boca del matraz, para luego cubrir con papel Kraft y sellar usando hilo pabilo.
- Se coloco en la autoclave para realizar su esterilización a 121°C durante 15 minutos.
- Transcurrido el tiempo adecuado, el matraz con el medio de cultivo fue retirado de la autoclave y se dejó enfriar hasta 50°C.
- Se mezcló suavemente y se dispenseo en placas de Petri esterilizadas.

**Preparación de los discos y placas para el ensayo** (Castañeda Matute, 2019)

- Los discos de sensibilidad de Nistatina se extraerán del congelador y se exponen a temperatura ambiente.
- En la realización del antibiograma es esencial que los discos de Nistatina alcancen la temperatura ambiente con el fin de eliminar la humedad, la cual podría ocasionar variabilidad en la concentración del agente antimicrobiano.
- El medio de cultivo, previamente elaborado, se distribuirá en las placas Petri, asegurándose de que la profundidad se encuentre alrededor de 4 mm de espesor.

- El exceso de humedad se evitó dejando las tapas ligeramente abiertas durante un periodo de 10 minutos a una temperatura de 20 °C.
- La contaminación se evitó, realizando todas las operaciones en la cámara de flujo con el propósito de prevenir cualquier forma de contaminación.

### **Inoculación del microorganismo en cada una de las placas.**

(Castañeda Matute, 2019)

- En un lapso inferior a 15 minutos después de haber estandarizado el inóculo, se procedió a impregnar completamente un hisopo estéril con la suspensión microbiana.
- A continuación, se realizó la inoculación de la placa de manera paralela en toda su extensión, repitiendo este procedimiento tres veces y rotando la placa alrededor de 60° en cada ocasión, abarcando la totalidad de la superficie de borde a borde.
- Se permitió un periodo de secado de 5 minutos antes de colocar los discos, con el propósito de lograr un crecimiento confluyente que cubra la totalidad de la placa, evitando así áreas sin crecimiento y posibles complicaciones en la interpretación durante la lectura posterior.

### **Distribución de los discos.** (Castañeda Matute, 2019)

- Los discos se posicionarán a una distancia de 15 mm desde el borde de la placa, dispuestos de manera que no se sobrepongan los halos de inhibición.
- La colocación se llevará a cabo utilizando una pinza estéril, comenzando con el disco de control positivo (sensibilidad), seguido por los discos de control negativo (agua estéril y DMSO).

- A continuación, se ubicarán los discos impregnados con las diversas diluciones del aceite esencial, aplicando una leve presión después de su colocación en el agar para asegurar la adhesión.
- Las placas se sellaron y posteriormente fueron incubadas a 37 °C durante un período de 24 horas.

**Medición de halos de inhibición.** (Castañeda Matute, 2019)

Concluido el periodo de incubación procedimos a medir el diámetro de cada uno de los halos de inhibición producidos como efecto de cada una de las muestras.

**d) Procesamiento y análisis de la información**

Valderrama (2015), considera que posterior a la recopilación de la información, se debe de aplicar mecanismos estadísticos para dar solución a nuestro problema, de tal manera permita aceptar o rechazar nuestras teorías planteadas. La información obtenida será tabulada en Excel y posteriormente será analizada por el programa SPSS versión 25. Se aplicarán las pruebas estadísticas para analizar cada grupo en estudio y luego se evaluó si existe diferencia significativa entre los valores promedio de los halos de inhibición, mediante el análisis de varianza (ANOVA).

## 8 Resultados

**Tabla 1**

Caracteres físicos y químicos del aceite esencial de *Origanum vulgare* L. “orégano”

<b>Parámetros</b>	<b>Resultado</b>
Color	Amarillo
Olor	Sui generis
Sabor	Astringente
Aspecto	Transparente, Fluido, Homogéneo
Solubilidad en aceite mineral	Soluble en proporción 1:1
Solubilidad en agua	Insoluble
Solubilidad en etanol al 70 %	Soluble en proporción 1:100
pH	4.992 + 0.0287424
Índice de refracción	1.42 + 0.002542
Densidad	0.981 + 0.03242 g/cc
Índice de acidez	0.899 + 0.3574 mg KOH/g

**Fuente:** Hecho por el autor

### **Descripción**

La tabla 1 muestra los resultados del análisis del aceite volátil de *Origanum vulgare* L. “orégano”. Es un producto de color amarillo claro, olor característico, de sabor astringente, es un líquido bastante fluido, soluble en aceite mineral y alcohol de 70 % y poco soluble en agua (1/10), según su pH de 4.992 es ligeramente ácido, menos denso que el agua (0.981 g/cc), con un IR de 1.42 y un índice de acidez bajo de 0.899 mg KOH/g.

**Tabla 2**

Caracteres físicos y químicos del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* L. “romero”.

Parámetros	Resultado
Color	Amarillo
Olor	Sui generis
Sabor	Astringente
Aspecto	Transparente, Fluido, Homogéneo
Solubilidad en aceite mineral	Soluble en proporción 1:1
Solubilidad en agua	Insoluble
Solubilidad en etanol al 70 %	Soluble en proporción 1:100
pH	5.652 + 0.0287424
Densidad	0.991 + 0.03242 g/CC
Índice de refracción	1.49 + 0.002542
Índice de acidez	1.019 + 0.3574 mg KOH/g

**Fuente:** Hecho por el autor

### **Descripción**

La tabla 2 muestra los resultados del análisis del aceite volátil de *Rosmarinus officinalis* s L. “romero”. Es un producto de color amarillo claro, olor característico, de sabor astringente, es un líquido bastante fluido y transparente, soluble en aceite mineral y alcohol de 70 % y poco soluble en agua (1/10), según su pH de 5.652 es ligeramente ácido, menos denso que el agua (0.991 g/cc), con un IR de 1.49 y un índice de acidez bajo de 1.019 mg KOH/g.

**Tabla 3**

Diámetros promedio de los Halos de Inhibición en la Evaluación de la Actividad Antifúngica del Aceites Esenciales de *Origanum vulgare* L., *Rosmarinus officinalis* L. y el fármaco patrón Nistatina contra *Cándida albicans*, cepa ATCC 10231."

Concentración	Diámetros promedio del halo de inhibición (mm)		
	Romero X ± DS	Orégano X ± DS	(Nistatina) X ± DS
50%	12 ± 1.22474487	16 ± 1.22474487	
75%	32 ± 1.58113883	34 ± 1.22474487	
100%	34 ± 2.91547595	39 ± 2.23606798	
<b>Nistatina</b>			33 ± 0.70710678

Fuente:

Hecho

por el autor

**Descripción**

La Tabla 3 muestra los resultados de la evaluación de la actividad antifúngica de las sustancias analizadas. Cada valor representa el promedio de cinco repeticiones para cada concentración de los aceites esenciales evaluados, así como para el fármaco patrón Nistatina, que se empleó como sustancia de referencia. Se observó que el diámetro promedio de la zona de inhibición para la Nistatina fue de 32.60, indicando, según los criterios establecidos para esta investigación, que la Nistatina exhibe una actividad antifúngica (Sensible:  $\geq 17$  mm) contra *Cándida albicans* en un entorno de investigación in vitro.

**Tabla 4**

Actividad antimicótica de las muestras del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* L. al 50, 75 y 100 % en cultivos de *Cándida albicans* ATCC 10231.

ANOVA					
<i>Rosmarinus officinalis</i> L.					
Fuente de variación	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig
Entre grupos	1496.33	2	748.067	510.045	0.000
Dentro de grupos	17.600	12	1.467		
Total	1513.733	14			
POST ANOVA					
HDS Tukey	Subconjunto para alfa = 0.005				
Grupo	N	1	2	3	
ROM 50 %	5	11.8			
ROM 75 %	5		31.8		
ROM 100 %	5			34	
Sig		1.000	1.000	1.000	

**Fuente:** Hecho por el autor

### Descripción

La Tabla 4 muestra que el valor de F obtenido fue de 510.045 (prueba estadística Fisher) con significancia de 0,000 ( $p < 0.05$ ), demostrando estadísticamente que el efecto antimicótico del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* L. sobre la levadura en estudio es real. La prueba Tukey al evaluar las muestras de los aceites esenciales en 4 grupos distintos, muestra concluyentemente que el aceite esencial puro (100 %) es la concentración más efectiva.

**Tabla 5**

Actividad antimicótica de las muestras del aceite esencial de *Origanum vulgare* L., al 50, 75 y 100 % en cultivos de *Cándida albicans* ATCC 10231.

ANOVA					
<i>Origanum vulgare</i> L.					
Fuente de variación	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig
Entre grupos	1453.733	2	726.867	375.966	0.000
Dentro de grupos	23.200	12	1.933		
Total	1476.933	14			
POST ANOVA					
HDS Tukey	Subconjunto para alfa = 0.005				
Grupo	N	1	2	3	
ORE 50 %	5	16.6			
ORE 75 %	5		34.8		
ORE 100 %	5			39.40	
Sig		1.000	1.000	1.000	

**Fuente:** Hecho por el autor

### Descripción

La Tabla 5 muestra que el valor para F fue de 375,966 (prueba estadística Fisher) con significancia de 0,000,  $p < 0.05$ , demostrándose estadísticamente el efecto antimicótico del aceite esencial de *Origanum vulgare* L. sobre la levadura en estudio. La prueba Tukey al evaluar las muestras de los aceites esenciales en 4 grupos distintos, muestra concluyentemente que el aceite esencial puro (100 %) es la concentración más efectiva.

**Tabla 6**

Actividad antimicótica de las muestras del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis L.* y *Origanum vulgare L.* al 50, 75 y 100 % en cultivos de *Cándida albicans ATCC 10231*.

ANOVA					
<i>Origanum vulgare L.</i> Vs <i>Rosmarinus officinalis L.</i>					
Fuente de variación	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig
Entre grupos	1666.150	3	555.838	390.977	0.000
Dentro de grupos	22.800	16	1.425		
Total	1688.950	19			
POST ANOVA					
HDS Tukey	N	Subconjunto para alfa = 0.005			
Grupo		1	2	3	4
ROM 50 %	5	11.80			
ORE 50 %	5		16.6		
ROM 75 %	5			31.8	
ORE 75 %	5			34.8	
ROM 100 %	5				34
ORE 100 %					39.4
Sig		1.000	1.000		1.000

**Fuente:** Hecho por el autor

### Descripción

La Tabla 6 muestra que el valor de F es de 390.977 (prueba estadística Fisher) con significancia menor al 5%  $p < 0.05$ , demostrándose que existe efecto antimicótico de ambos aceites esenciales en investigación experimental sobre la levadura en estudio. La prueba Tukey muestra concluyentemente que el aceite esencial puro de ambas muestras (100 %) es la concentración más efectiva, sobre *Cándida albicans ATCC 10231* in vitro.

**Tabla 7**

Actividad antifúngica del *aceite esencial Rosmarinus officinalis L.* al 50, 75 y 100 % y el compuesto de referencia Nistatina en cultivos de *Cándida albicans ATCC 10231*.

ANOVA					
<i>Rosmarinus officinalis L.</i> Vs Nistatina					
Fuente de variación	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig
Entre grupos	1553.644	3	825.267	395.977	0.000
Dentro de grupos	33.1	15	2044		
Total	1586.744	18			
POST ANOVA					
HDS Tukey	N	Subconjunto para alfa = 0.005			
Grupo		1	2	3	4
ORE 50 %	5		13.5		
ORE 75 %	5				
NISTATINA	5			32.86	
ORE 100 %	5				32.122
Sig		1.000	1.000		1.000

**Fuente:** Hecho por el autor

### Descripción

La Tabla 7 muestra que el valor de F fue de 375,966 (prueba estadística Fisher) con significancia menor al 5% ( $p < 0.05$ ), hecho que demuestra estadísticamente que existe efecto antimicótico del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis L.* sobre la cepa de *Cándida albicans ATCC 10231* en evaluación. La prueba de Tukey concluye que el aceite al 100% es más efectivo.

**Tabla 8**

Actividad antifúngica del *aceite esencial de Origanum vulgare L.* y de la sustancia patrón Nistatina en cultivos de *Cándida albicans ATCC 10231*.

ANOVA					
Nistatina Vs <i>Origanum vulgare L.</i>					
Fuente de variación	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig
Entre grupos	1866.25	5	855.266	389.845	0.000
Dentro de grupos	35.7	15	1800.12		
Total	1901.95	20			
POST ANOVA					
HDS Tukey					
Grupo	N	Subconjunto para alfa = 0.005			
		1	2	3	4
ORE 50 %	5		13.5		
ORE 75 %	5			23.55	
Nistatina	5			32.89	
ORE 100 %	5				32.122
Sig		1.000	0.812		0.389

**Fuente:** Hecho por el autor

### Descripción

La Tabla 8 evidencia que el valor de F fue de 389,743 (prueba estadística Fisher) con una significancia menor al 5% ( $p < 0.05$ ), demostrando que hay existe actividad antimicótica significativa de aceite esencial de *Origanum vulgare L.* y de Nistatina sobre la cepa de *Cándida albicans ATCC 10231* en evaluación. La prueba de Tukey (POST ANOVA), evidencia que la muestra del aceite al 100% es más efectiva.

## 9. Análisis y Discusión

En esta investigación, se calculó el diámetro promedio del halo de inhibición para el aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* L. a una concentración del 50%, que resultó ser de 12 mm. Al contrastar este valor con las pautas del Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI) de 2019, que clasifica como resistente cualquier formación de halo de inhibición  $\leq 13$  mm, se evidenció que el aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* L. a una concentración del 50% no ejerce acción antifúngica sobre la cepa de *Cándida albicans* ATCC 10231.

En el marco de la presente investigación, se estableció que el diámetro promedio del halo de inhibición para el aceite esencial de *Origanum vulgare* L. a una concentración del 50% es de 16 mm. Al cotejar este valor con las directrices del Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI) de 2019, que categoriza como "Intermedio" la formación de halos de inhibición en el rango de 14 a 16 mm, se confirmó que, dado que el promedio es de 16 mm, no se alcanza el umbral para considerar que el aceite esencial de *Origanum vulgare* L. a la concentración del 50% exhibe acción antimicótica sobre la cepa de *Cándida albicans* ATCC 10231.

En el curso de la presente investigación, se estableció que los diámetros promedio de los halos de inhibición para el aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* L. y el *Origanum vulgare* L. a concentraciones del 75% son de 32 mm y 34 mm, respectivamente. En cuanto a las concentraciones del 100%, se observaron diámetros promedio de 34.00 mm y 39 mm, respectivamente. Al comparar meticulosamente estos valores con las directrices del Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI) de 2019, que considera como indicativo de sensibilidad la formación de halos de inhibición con un tamaño  $\geq 17$  mm, se concluye que tanto el aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* L. como el de *Origanum vulgare* L. sin duda alguna exhiben actividad antifúngica sobre la cepa de *Cándida albicans* ATCC 10231.

En la Tabla 3, se observa que el aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* L. y el aceite esencial de *Origanum vulgare* L., a concentraciones

del 75% y del 100%, presentan una eficacia comparable (32 mm para el aceite esencial de romero al 75%, comparado con los 33 mm de la Nistatina) o superior (34 mm y 39 mm para el aceite esencial de *Origanum vulgare* L., respectivamente; y 34.00 mm para el aceite esencial de romero al 100%, todos en comparación con los 33 mm de la Nistatina). Estos resultados demuestran de manera concluyente que ambos aceites esenciales tienen una eficacia similar a la Nistatina contra *Cándida albicans*, conforme a los criterios del Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI) de 2019, que establece que el microorganismo se considera sensible si el halo de inhibición es  $\geq 17$  mm. Además, según los datos consignados en la Tabla 3, se puede inferir que la actividad antimicótica del aceite esencial de ambas especies vegetales en estudio sobre la cepa de *Cándida albicans* ATCC 10231 es dependiente de la concentración, ya que su efecto aumenta con la concentración. Este hallazgo es significativo y respalda investigaciones anteriores, como la llevada a cabo por Pérez Delgado & Vallejos Campos (2019), que también mostraron resultados similares.

Además, al examinar los datos presentes en la Tabla 3 y comparar la actividad antifúngica contra *Cándida albicans* entre el aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* L. y el aceite esencial de *Origanum vulgare* L. en las 3 concentraciones evaluadas, se evidencia que la eficacia antifúngica del aceite esencial de *Origanum vulgare* L. supera la eficacia del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* L. contra *Cándida albicans*. Este hallazgo se respalda mediante el análisis estadístico detallado en la Tabla 6.

Asimismo, sobre el aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* L., es relevante señalar que, como se detalla en la Tabla 3, el aceite esencial de romero al 50% no demuestra eficacia como agente antifúngico contra *Cándida albicans*, ya que generó un halo de inhibición de 12 mm, siendo considerado resistente según los criterios establecidos por el CLSI ( $<13$ ). Este resultado contrasta notablemente con los hallazgos presentados en el estudio de Pérez Delgado & Vallejos Campos (2019), donde el aceite esencial de romero, a una concentración de 50  $\mu$ l, logró una zona de inhibición de 29 mm.

En contraste, en lo que respecta al aceite de romero al 100%, se observa que genera un halo de inhibición de 34 mm de diámetro, comparado con el halo de inhibición correspondiente a la nistatina, que mide 33 mm. Este resultado guarda similitud con los hallazgos presentados en la investigación de Pérez Delgado & Vallejos Campos (2019), donde el aceite esencial de romero, a una concentración de 100  $\mu$ l, alcanzó una zona máxima de inhibición de 38 mm.

En relación con el aceite de *Origanum vulgare* L. al 50%, se puede deducir, a partir de los resultados expuestos en la Tabla 3, que no exhibe eficacia, ya que, al generar un halo de inhibición de un diámetro de 16 mm, se considera una efectividad intermedia según los estándares del CLSI (14 a 16 mm) en cuanto a la actividad antifúngica contra *Cándida albicans*. Este resultado es comparable con lo documentado en la investigación de Dionicio (2019), donde el aceite esencial de eucalipto a una concentración del 50% generó un halo de inhibición de 12.2 mm de diámetro, siendo catalogado como resistente según los criterios del CLSI (<13), lo que indica que no presenta actividad antifúngica contra *Cándida albicans* a esta concentración.

Es relevante destacar que Vásquez (2019) llevó a cabo una investigación para evaluar la eficacia antimicótica del extracto etanólico de *Origanum vulgare* L. contra *Cándida albicans* mediante un estudio in vitro. En este trabajo, el investigador analizó el efecto antimicótico del extracto etanólico a concentraciones del 5, 25, 0%, 75 y 100%, utilizando la técnica de difusión con discos de Kirby-Bauer. Según los resultados obtenidos, la concentración al 100% generó un halo de inhibición con un diámetro promedio de 17.4 mm. Como conclusión, afirmaron que el extracto etanólico demuestra eficacia general contra *Cándida albicans*, y que el efecto antifúngico se intensifica a medida que aumenta la concentración del extracto.

## 10. Conclusiones y recomendaciones

### Conclusiones

- 1) El aceite volátil de *Rosmarinus officinalis L.* mostró baja actividad antimicótica sobre *Cándida albicans* a la concentración de 50 %; pero a las concentraciones de 75 % y 100 % mostro elevada actividad antimicótica, en la evaluación in vitro.
- 2) El aceite volátil de *Origanum vulgare L.* mostró actividad antimicótica intermedia sobre *Cándida albicans* a la concentración de 50 %; y a las concentraciones de 75 y 100 % mostró una actividad antimicótica elevada sobre *Cándida albicans* en la evaluación in vitro.
- 3) La nistatina, como era de esperar, mostró una alta actividad antimicótica sobre *Cándida albicans* en la evaluación in vitro.
- 4) El aceite volátil de *Origanum vulgare L.* mostró mayor efecto antimicótico que el aceite volátil de *Rosmarinus officinalis L.* frente *Cándida albicans* en la evaluación in vitro para cada una de las concentraciones evaluadas.
- 5) El aceite volátil de *Rosmarinus officinalis L.* al 75 % mostró un efecto antimicótico, semejante a la Nistatina y los resultados de la evaluación de la muestra a la concentración al 100 % mostró ser más efectivo que la sustancia patrón.
- 6) El aceite volátil de *Origanum vulgare L.* al 75 % mostró efecto semejante a la Nistatina y la muestra al 100% resultó ser más efectiva que la Nistatina sobre *Cándida albicans* in vitro.

## Recomendaciones

- 1) La universidad debería estimular con mayor énfasis los estudios sobre la potencial utilidad de estos aceites esenciales, talvez formulando productos de aplicación tópica.
- 2) Realizar más estudios sobre los aceites esenciales, especialmente con el aceite volátil de *Origanum vulgare* L., *no solo* como agentes antifúngicos. sino también, como antibacterianos.

## 11. Referencias bibliográficas

- Aguilar-Barojas, S. (2005). Fórmulas para el cálculo de la muestra en investigaciones de Salud en Tabasco [Ebook] (11th ed., pp. núm. 1-2, enero-agosto, 2005, pp. 333-338). Recuperado el 21 de junio de 2022, de <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=48711206>.
- Andrade, J. M., Faustino, C., Garcia, C., Ladeiras, D., Reis, C. P., & Rijo, P. (2018). *Rosmarinus officinalis* L.: An update review of its phytochemistry and biological activity. Future Science OA, 4(4). <https://doi.org/10.4155/fsoa-2017-0124>
- Arias-Gómez, J., Villasís-Keever, M. Á., & Novales, MGM (2016). El protocolo de investigación III: la población de estudio. Revista Alergia México , 63 (2), 201-206.
- Bonifaz Trujillo, J. (2015). *Micología médica básica* (5th ed., p. 356). McGraw Hill.
- Camus Ramos, E., & De La Cruz Ortiz, N. (2021). Protección antifúngica in situ del aceite esencial de *Cymbopogon citratus* frente a hongos ambientales en la conservación post-cosecha de *Fragaria vesca* var. Aromas [Tesis]. Universidad María Auxiliadora. Recuperado el 15 de junio de 2022, de <https://hdl.handle.net/20.500.12970/590>.
- Cárdenas Verdezoto, J. (2014). Control Biológico de fusarium en hortalizas de la parroquia san Joaquín [Ebook]. Universidad del Uzuay. Recuperado el 11 de julio de 2022, de <https://dspace.uazuay.edu.ec/bitstream/datos/4274/1/10832.pdf>.
- Cantón Lacasa, E., Martín Mazuelos, E., & Espinel-Ingroff, A. (2007). Métodos estandarizados por el CLSI para el estudio de la sensibilidad a los antifúngicos (documentos M27-A3, M38-A y M44-A) [Ebook] (pp. 978-84-611-8776-8). Revista Iberoamericana de Micología - I. Recuperado el 20 de julio de 2022, de <http://www.guia.reviberoammicol.com/Capitulo15.pdf>.

- Cabezas Sandoval, M. (2021). Evaluación de la actividad antimicrobiana de los aceites esenciales de *Eucalyptus globulus*, *Rosmarinus officinalis* y *Cymbopogon citratus* frente a cepas ATCC [Ebook]. Quito-Ecuador. Recuperado el 23 de julio de 2022, de <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/235>
- Da Silva de Oliveira, F., De Souza Teodoro, C., Amorim Berberto, P., & Martinazo, A. (2020). Evaluación del potencial antifúngico del aceite esencial de *Cymbopogon citratus* en el control del hongo *Aspergillus brasiliensis*. *Investigación, Sociedad Y Desarrollo*, (vol 9 n° 7). Recuperado el 13 de junio de 2022, de <https://doi.org/10.33448/rsd-v9i7.4697>.
- García García, J., Reding Bernal, A., & López Alvarenga, J. (2013). Cálculo del tamaño de la muestra en investigación en educación médica [Ebook] (pp. vol. 2, núm. 8, octubre-diciembre, 2013, pp. 217-224). *Investigación en Educación Médica*, Recuperado el 23 de julio de 2022, de <https://www.redalyc.org/pdf/3497/349733226007.pdf>.
- Gil Sánchez, P. (2022). Candidiasis: qué es, tipos, síntomas y tratamiento. Clínica Universidad de Navarra. cun.es. Recuperado el 29 de junio de 2022, de <https://www.cun.es/enfermedades-tratamientos/enfermedades/candidiasis>.
- Hernández, R., Fernández, C. & Baptista, P. (2006). Metodología de la Investigación. México: Mc Graw Hill.
- Hernández, R., Fernández, C y Baptista, M. (2014). Metodología de la investigación sexta edición. México D.F, México: McGraw –Hill.
- Kamsu, NP, Tchinda, SE, Tchameni, NS et al. (2019). Actividades antifúngicas de los aceites esenciales de canela (*Cinnamomum zeylanicum*) y limoncillo (*Cymbopogon citratus*) sobre los patógenos de la pudrición de la corona del banano. *Springer Nature*. (72, 131–137). *Fitopatología india*. Recuperado el 18 de junio del 2022, de: <https://doi.org/10.1007/s42360-018-0104-1>

- Kinnear, C y Taylor, R. (1998). Investigación de mercados. México. Mc. Graaw Hill.
- Lili Zhao, Yun Ye, Min Zhan, Jun-jie Tao, Li-hong Yang, Yun-hai Fan, et al. (2019). Antifungal Activity of Cymbopogon Citratus Essential Oils from Different Habitats Against Botrytis Cinerea. Revista SSRN. Recuperado el 19 de mayo de 2022 de: <http://dx.doi.org/10.2139/ssrn.4074553>
- López Luegon, M. (2004). Los aceites esenciales. ELSEVIER, (Pág. 88 - 91). Recuperado el 30 de junio de 2022, de <https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-los-aceites-esenciales-13064296>.
- Moreno Martínez, K. (2018). Efecto sinérgico del aceite esencial de cymbopogon citratus sobre la actividad de oxacilina, clindamicina y cotrimoxazol contra staphylococcus aureus [Tesis]. Recuperado el 19 de junio de 2022, de <http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/9736>.
- Martinazzo, A., Da Silva de Oliveira, F., & De Souza Teodoro, C. (2019). Actividad antifúngica del aceite esencial de Cymbopogon citratus frente a Aspergillus flavus. Ciencia Natural, (Ci. e Nat., Santa María v.41, e20, p. 01-08, 2019). Recuperado el 13 de junio de 2022, de <https://doi.org/10.5902/2179460X36055>.
- Martínez M., A. (2003). *Aceites esenciales* [Ebook] (1st ed., p. 1). Universidad de Antioquía. Retrieved 8 May 2022, from [http://www.med-informatica.com/OBSERVAMED/Descripciones/AceitesEsencialesUdeA\\_esencias2001b.pdf](http://www.med-informatica.com/OBSERVAMED/Descripciones/AceitesEsencialesUdeA_esencias2001b.pdf).
- Mejía Arango, M., Santa Vélez, C., Cadavid Sierra, M., María Vélez, L., María Colmenares, L., Restrepo Jaramillo, B., & Cardona Castro, N. (2013). Estudio etiológico y epidemiológico de las micosis cutáneas en un laboratorio de referencia – Antioquia – Colombia. Scielo, (Rev CES Med 2013: 27(1):7-19). Recuperado el 24 de junio de 2022, de <http://www.scielo.org.co/pdf/cesm/v27n1/v27n1a02.pdf>.

- Merck (Ed.). (2023). Mueller-Hinton Agar 2. Merck. [https://www.sigmaaldrich.com/PE/es/product/sial/97580?gclid=CjwKC\\_Ajw3oqoBhAjEiwA\\_UaLtp4yB9XUHOa1gAAz3slzS9kLnGu1GB1RTMF4m0hTuYE-h-\\_ImZL7CBoC-hUQAvD\\_BwE](https://www.sigmaaldrich.com/PE/es/product/sial/97580?gclid=CjwKC_Ajw3oqoBhAjEiwA_UaLtp4yB9XUHOa1gAAz3slzS9kLnGu1GB1RTMF4m0hTuYE-h-_ImZL7CBoC-hUQAvD_BwE)
- Mesa Angos, K., & Vargas Duque, G. (2013). Evaluación de la actividad antimicrobiana in vitro del aceite esencial de hierbaluisa (*Cymbopogon citratus*) en una formulación cosmética con una finalidad antiacnéica. [Tesis]. Universidad politécnica salesiana sede quito. Recuperado el 18 de julio de 2022, de <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/6005/1/UPS-QT03735.pdf>.
- Morillo Castillo, J., & Balseca Ibarra, M. (2018). Efecto inhibitorio del aceite esencial de *Cymbopogon Citratus* sobre la cepa de *Porphyromona Gingivalis*: Estudio In Vitro [Ebook]. Universidad central del ecuador. Recuperado el 28 de junio de 2022, de <http://DOI:10.29166/odontología.vol20.n2.2018-5-13>.
- Ortiz Solórzano, M., & Medina Vega, M. (2019). Grado de eficacia entre peróxido alcalino vs *Cymbopogon citratus* (hierba luisa) en la eliminación de *Cándida albicans* sobre estructuras acrílicas [Ebook]. Universidad Central del Ecuador. Recuperado el 17 de junio de 2022, de <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/18404>.
- Patiño, L., Saavedra, A., & Martínez, J. (2014). Extracción por arrastre de vapor de aceite esencial del romero [Ebook]. Universidad Mayor Real y Pontificia de San Francisco Xavier de Chuquisaca. Recuperado el 17 de julio de 2022, de [http://www.usfx.bo/nueva/Dicyt/Handbooks/Ciencias%20Tecnol%F3gicas%20y%20Agrarias\\_2/Ciencias%20Tecnol%F3gicas%20y%20Agrarias\\_Handbook\\_Vol%20II/PAPERS\\_25/art15.pdf](http://www.usfx.bo/nueva/Dicyt/Handbooks/Ciencias%20Tecnol%F3gicas%20y%20Agrarias_2/Ciencias%20Tecnol%F3gicas%20y%20Agrarias_Handbook_Vol%20II/PAPERS_25/art15.pdf).
- Pérez Cárdenas, J., Hoyos Zuluaga, A., & Cárdenas Henao, C. (2013). <http://www.scielo.org.co/pdf/biosa/v11n2/v11n2a04.pdf> [Ebook] (11ª ed., pp. págs. 26 - 39). Universidad de Caldas. Recuperado el 21 de

julio de 2022, de

<http://www.scielo.org.co/pdf/biosa/v11n2/v11n2a04.pdf>.

Pérez Cordero, A., Chamorro Anaya, L., Vitola Romero, D., & Hernández Gómez, J. (2017). Actividad antifúngica de *Cymbopogon citratus* contra *Colletotrichum gloeosporioides*. Scielo, (vol.28, n.2, pp.465-475. ISSN 2215-3608). Recuperado el 9 de junio de 2022, de <http://dx.doi.org/10.15517/ma.v28i2.23647>.

Pérez Delgado, O., & Vallejos Campos, E. C. (2019). Actividad antifúngica in vitro del extracto crudo acuoso de *Rosmarinus officinalis* contra *candida albicans*. Journal of the Selva Andina Research Society, 10(1), 45–51. <https://doi.org/10.36610/j.jsars.2019.100100045>

Revankar, S. (2021). Candidiasis. Manual MSD, Wayne State University School Of Medicine. Recuperado el 25 de junio de 2022, de <https://www.msdmanuals.com/es/hogar/infecciones/infecciones-por-hongos-infecciones-f%C3%BAngicas-micosis/candidiasis>.

Solano Rojas, L. L. (2018). Efecto Antifúngico del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* L. “romero” Sobre cepas de *Cándida albicans* ATCC10231 Comparado con Fluconazol (Tesis). Universidad César Vallejo, Trujillo.

SINACYT Perú. (2022). Reglamento de calificación, clasificación y registro de los investigadores del sistema nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación Tecnológica - Reglamento RENACYT. Recuperado el 13 de mayo de 2022, de.

<https://www.gob.pe/institucion/concytec/informes-publicaciones/2131042-reglamento-de-calificacion-clasificacion-y-registro-de-los-investigadores-del-sistema-nacional-de-ciencia-tecnologia-e-innovacion-tecnologica-reglamento-renacyt>

Syed, N. y Karthikeyan, B. (2018). Actividad antifúngica in vitro de extractos de hojas de limoncillo (*Cymbopogon citratus*). Revista de farmacognosia y fitoquímica, 2018; 7(3): 1148-1151. Recuperado el 19

de junio de 2022, de <https://www.phytojournal.com/archives/2018/vol7issue3/PartP/7-3-32-998.pdf>.

Sahal, G., Woerdenbag, H., Hinrichs, W., Visse, A., Tepper, P. y Quax, W. et al. (2020). Efecto antifúngico e inhibidor de biopelículas del aceite esencial de *Cymbopogon citratus* (hierba de limón) sobre la formación de biopelículas por aislamientos de *Candida tropicalis*; un estudio in vitro. Elsevier - Revista de Etnofarmacología, (Volumen 246, 10 de enero de 2020, 112188). Recuperado el 20 de junio de 2022, de <http://10.1016/j.jep.2019.112188>.

Tantalean Delgado, L. (2019). Efecto Antimicótico de Hierba Luisa (*Cymbopogon Citratus*) y Uña de Gato (*Uncaria Tomentosa*) Contra *Cándida Albicans* [Tesis]. Universidad Nacional de Jaén. Recuperado el 3 de mayo de 2022, de <http://repositorio.unj.edu.pe/handle/UNJ/361>.

Valderrama, S. (2015). Pasos para elaborar proyectos de investigación científica (2.a ed., Vol. 1). Alianza Editorial.

Veiga de cabo, j., De la fuente Díez, E., & Zimmermann Verdejo, M. (2008). Modelos de estudios en investigación aplicada: conceptos y criterios para el diseño. *Scielo*, (vol.54 no.210). Recuperado el 14 de mayo de 2022, de [https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0465-546X2008000100011](https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0465-546X2008000100011).

Vázquez Briones, M., & Guerrero Beltrán, J. (2017). Efecto del aceite esencial de *Cymbopogon citratus* sobre propiedades fisicoquímicas en películas de quitosano. *Scielo*, (vol.8 no.4 Trujillo). Recuperado el 19 de julio de 2022, de <http://dx.doi.org/10.17268/sci.agropecu.2017.04.11>.

Vircell. (2022). *Cándida albicans* - Vircell. Vircell.com Recuperado el 28 de junio de 2022, de <https://www.vircell.com/enfermedad/27-candida-albicans/>.

- Wen, L., Haddad, M., Fernandez, I., Espinoza, G., Ruiz, C., & Neyra, E. et al. (2011). Actividad antifungica de cuatro plantas usadas en la medicina tradicional peruana. Aislamiento de 3'-formil - 2',4',6' - trihidroxidihidrochalcona, principio activo de *Psidium acutangulum* [Ebook] (pp. Rev. Soc. Quím. Perú v.77 n.3 Lima jul./set. 2011) . Recuperado el 28 de junio de 2022, de [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1810-634X2011000300005](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1810-634X2011000300005).
- Zapata Cárcamo, L. (2000). Epidemiología de las micosis superficiales. *Dermatología peruana*, (EDICIÓN 2000). Recuperado el 23 de junio de 2022, de [https://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/dermatologia/es\\_%20set%202000/epid\\_mic.htm](https://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/dermatologia/es_%20set%202000/epid_mic.htm).

## **12.Agradecimiento.**

A Dios por guiarme en todo momento, a mi familia, mis hijos y docentes por sus consejos, apoyo y palabras de aliento.

Muchas gracias.

### 13. ANEXOS

#### Anexo 1



## **SOLUCIONES NATURALES AL NATURAL S.R.L.**

JR. JOSE SABOGAL NRO. 313 URB. PALERMO – TRUJILLO  
TRUJILLO- LA LIBERTAD  
RUC 20601408288 - TELEFONO 360453

### **AUTORIZACION DE USO DE AMBIENTES Y EQUIPO**

En atención a la solicitud verbal sobre la prestación de ambiente y equipos de Laboratorio, por parte del Sra. **RUBI MILENA RODRIGUEZ PAREDES**, identificada con DNI 45732339, con código 1314100006, alumna del Programa académico de Farmacia y Bioquímica de la Universidad San Pedro, Bachiller en Farmacia y Bioquímica, la cual para culminar su carrera universitaria debe desarrollar un trabajo de investigación que se constituirá en su Tesis de Pregrado.

En representación de la empresa y conociendo que la Universidad san Pedro terminó sus actividades en la ciudad de Trujillo, es nuestra voluntad ceder en forma gratuita nuestro ambiente y equipo (control de calidad) que están en perfecto estado, para que la antes mencionada alumna realice las pruebas pertinentes a su trabajo de investigación, bajo la dirección de su asesor el Q.F. Mg. Felipe Rubén Rubio López, dejando constancia que la señora traerá los reactivos y otros insumos que necesite para el desarrollo de su investigación que lleva por título “Efecto antimicótico del aceite esencial del *Origanum vulgare* L. “orégano” y *Rosmarinus officinalis* L. “romero”, sobre *Cándida albicans* ATCC 10231 in vitro”.

Se otorga el presente documento a solicitud de la alumna, para los fines que estime conveniente

Trujillo, 10 de Junio del 2022

**Carlos Naval Sopan Benaute**  
Gerente

Anexo 2

**HOJA DE RECOLECCION DE DATOS DE  
CARACTERES ORGANOLEPTICOS**

<b>C. Organoléptico</b>	<b>Aceite esencial</b>	
	<b>Romero</b>	<b>Orégano</b>
<b>Olor</b>	A romero	A orégano
	A romero	A orégano
	A romero	A orégano
<b>Color</b>	Amarillo (Pantone 115)	Amarillo (Pantone 459)
	Amarillo (Pantone 115)	Amarillo (Pantone 459)
	Amarillo (Pantone 115)	Amarillo (Pantone 459)
<b>Sabor</b>	Astringente	Astringente
	Astringente	Astringente
	Astringente	Astringente
<b>Aspecto</b>	Transparente	Transparente
	Transparente	Transparente
	Transparente	Transparente
<b>Textura</b>	Homogénea	Homogénea
	Homogénea	Homogénea
	Homogénea	Homogénea
<b>Estado físico</b>	Líquido	Líquido
	Líquido	Líquido
	Líquido	Líquido

### Anexo 3

#### RESULTADOS DE LOS ENSAYOS DE SOLUBILIDAD

Ensayo	Solvente	Aceite esencial	
		Romero	Orégano
Solubilidad	Aceite mineral	Soluble (1:1)	Soluble (1:1)
		Soluble (1:1)	Soluble (1:1)
		Soluble (1:1)	Soluble (1:1)
	En agua	Insoluble (1:10000)	Insoluble (1:10000)
		Insoluble (1:10000)	Insoluble (1:10000)
		Insoluble (1:10000)	Insoluble (1:10000)
	En etanol de 70 %	Soluble (1:10)	Soluble (1:10)
		Soluble (1:10)	Soluble (1:10)
		Soluble (1:10)	Soluble (1:10)

#### Anexo 4

### RESULTADOS DE LAS PRUEBAS FISICO-QUIMICAS

PRUEBA	RESULTADO
pH	5.65
	5.73
	5.58
Densidad g/cm <sup>3</sup>	1.02
	0.99
	0.964
Índice de refracción	1.48
	1.49
	1.5
Índice de acidez (mg KOH/g)	1.021
	1.024
	1.013

Anexo 5

RESULTADOS DEL ENSAYO MICROBIOLÓGICO

PRODUCTO	HALO DE INHIBICIÓN (mm)					
	Orégano			Romero		
	Resultado	Promedio	D. estándar	Resultado	Promedio	D. estándar
Aceite esencial al 50 %	14.00	16	1.22474487	11	12	1.22474487
	16.00			11		
	16.00			12		
	17.00			14		
	17.00			12		
Aceite esencial al 75%	34.00	34	1.22474487	34	32	1.58113883
	34.00			32		
	33.00			30		
	36.00			31		
	33.00			33		
Aceite esencial al 100% (Puro)	38.00	39	2.23606798	35	34	2.91547595
	36.00			32		
	39.00			30		
	42.00			36		
	40.00			37		
Nistatina	<b>Resultado</b>	<b>Promedio</b>		<b>Desviación estándar</b>		
	32.00	33		0.70710678		
	33.00					
	33.00					
	33.00					
	34.00					

## Anexo 6

### Matriz de consistencia

PROBLEMA	VARIABLES	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	METODOLOGÍA
¿Cuál es el efecto antimicótico del aceite esencial del <i>Origanum vulgare</i> L. “orégano” y <i>Rosmarinus officinalis</i> L. “romero”, sobre <i>Cándida albicans</i> ATCC 10231 in vitro?	Aceite esencial de romero y de orégano	<p><b>Objetivo General:</b></p> <p>Evaluar la actividad antifúngica “in vitro” del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> L. “orégano” y <i>Rosmarinus officinalis</i> L. “romero”, sobre <i>Cándida albicans</i> ATCC 10231 in vitro.</p>	El aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> L. “orégano” y <i>Rosmarinus officinalis</i> L. “romero” tiene una actividad antimicótica importante sobre cepas de <i>Cándida albicans</i> ATCC 10231	<p><b>Tipo:</b> básica, Experimental.</p> <p><b>Diseño:</b> Cuasi experimental y de enfoque cuantitativo.</p> <p><b>Población y Muestra:</b> Cepas de <i>Cándida albicans</i> ATCC10231.</p> <p><b>Metodología:</b> Se utilizará el método de Kirby-Bauer. A partir de donde se obtienen los halos de inhibición. El análisis estadístico se hará mediante Exel SSPP.</p>
	Actividad Antifúngica	<p><b>Objetivos Específicos:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Extraer y caracterizar los aceites esenciales de <i>Origanum vulgare</i> L. “orégano” y <i>Rosmarinus officinalis</i> L. “romero”.</li> <li>• Preparar las diluciones al 50%, 75% y 100% del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> L. “orégano” y <i>Rosmarinus officinalis</i> L. “romero”</li> <li>• Realizar el aromagrama con cada una de las diluciones de los aceites esenciales de <i>Origanum vulgare</i> L. “orégano” y <i>Rosmarinus officinalis</i> L. “romero”, sobre <i>Cándida albicans</i> ATCC 10231.</li> <li>• Realizar el antibiograma con Nistatina sobre cepas de <i>Cándida albicans</i> ATCC 10231 in vitro</li> <li>• Comparar el efecto antimicótico del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> L. “orégano” y <i>Rosmarinus officinalis</i> L. “romero” Vs Nistatina, sobre cepas de <i>Cándida albicans</i> ATCC 10231</li> </ul>		

## Anexo 7

### Formato de publicación de repositorio



# REPOSITORIO INSTITUCIONAL DIGITAL

FORMULARIO DE AUTORIZACION PARA LA PUBLICACION DE DOCUMENTOS DE INVESTIGACION

<b>1. Información del Autor</b>									
<b>Rodriguez Paredes Rubi Milena</b>		<b>45732339</b>	libra_rub@hotmail.com						
Apellidos y Nombres		DNI	Correo Electrónico						
<b>2. Tipo de Documento de Investigación</b>									
<input checked="" type="checkbox"/>	Tesis	<input type="checkbox"/>	Trabajo de Suficiencia Profesional	<input type="checkbox"/>	Trabajo Académico	<input type="checkbox"/>	Trabajo de Investigación		
<b>3. Grado Académico o Título Profesional</b>									
<input type="checkbox"/>	Bachiller	<input checked="" type="checkbox"/>	Título Profesional	<input type="checkbox"/>	Título Segunda Especialidad	<input type="checkbox"/>	Maestría	<input type="checkbox"/>	Doctorado
<b>4. Título del Documento de Investigación</b>									
<b>Efecto antimicótico del aceite esencial del <i>Origanum vulgare</i> L. "orégano" y <i>Rosmarinus officinalis</i> L. "romero", sobre <i>Cándida albicans</i> ATCC 10231 in vitro</b>									
<b>5. Programa Académico</b>									
<b>FARMACIA Y BIOQUIMICA</b>									
<b>6. Tipo de Acceso al Documento</b>									
<input checked="" type="checkbox"/>	Abierto o Público	<input type="checkbox"/>	Acceso restringido						
* (info.uv - repossemantics/openAccess)		* (info.uv - repossemantics/restrictedAccess) (*)							
(*) En caso de restringido sustentar motivo									

#### A. Originalidad del Archivo Digital

Por el presente depongo constancia que el archivo digital que entrego a la Universidad, es la versión final del trabajo de investigación sustentado y aprobado por el Jurado Evaluador y forma parte del proceso que conduce a obtener el grado académico o título profesional.

#### B. Otorgamiento de una licencia CREATIVE COMMONS

El autor, por medio de este documento, autoriza a la Universidad, publicar su trabajo de investigación en formato digital en el Repositorio Institucional Digital, al cual se podrá acceder, preservar y difundir de forma libre y gratuita, de manera íntegra a todo el documento.



Lugar	Día	Mes	Año
Chimbote	08	01	2024

#### Importante

- Según Resolución de Consejo Directivo N° 030 -2016-SUNEDUCO, Reglamento del Registro Nacional de Trabajos de Investigación para optar Grados Académicos y Títulos Profesionales, Art. 8, inciso 8.2
- Ley N° 28035 Ley que regula el Repositorio Nacional Digital de Ciencia, Tecnología e Innovación de Acceso Abierto y D.S. 006 -2015-PCM
- Si el autor eligió el tipo de acceso abierto o público, otorga a la Universidad San Pedro una licencia no exclusiva, para que se pueda hacer arreglo de forma en la obra y difundir en el Repositorio Institucional Digital. Respetando siempre los Derechos de Autor y Propiedad Intelectual de acuerdo y en el Marco de la Ley 822.
- En caso de que el autor elija la segunda opción, únicamente se publicará los datos del autor y resumen de la obra, de acuerdo a la directiva N° 004-2018-COMCYTEGDEC (Noveles 4.2 y 5.1) que norma el funcionamiento del Repositorio Nacional Digital
- Las licencias Creative Commons (CC) es una organización internacional sin fines de lucro que posee a disposición de los autores un conjunto de licencias flexibles y de herramienta tecnológica que facilitan la difusión de información, recursos educativos, obras artísticas y científicas, entre otros. Estas licencias también garantizan que el autor obtenga el crédito por su obra.
- Según el inciso 12.2 del artículo 12° del Reglamento del Registro o Nacional de Trabajos de Investigación para optar grados académicos y títulos profesionales -RENATI, Las universidades, instituciones y escuelas de educación superior tienen como obligación registrar todos los trabajos de investigación y proyectos, incluso en los repositorios de sus repositorios institucionales creadados al fin de acceso abierto o restringido, los cuales serán posteriormente recolectados por el Repositorio Digital (RENATI), a través del Repositorio ALADMI.

Nota: En caso de fallecimiento en los 5 años, se procederá de acuerdo a ley (Ley 27444, art. 32, Adm. 32.3)

## Anexo 8

### Reporte de similitud

Efecto antimicótico del aceite esencial del *Origanum vulgare* L. "orégano" y *Rosmarinus officinalis* L. "romero", sobre *Cándida albicans* ATCC 10231 in vitro

#### INFORME DE ORIGINALIDAD



#### FUENTES PRIMARIAS

<b>1</b>	<b>repositorio.usanpedro.edu.pe</b> Fuente de Internet	<b>11%</b>
<b>2</b>	<b>hdl.handle.net</b> Fuente de Internet	<b>3%</b>
<b>3</b>	<b>repositorio.ucv.edu.pe</b> Fuente de Internet	<b>2%</b>
<b>4</b>	<b>Submitted to Universidad Cesar Vallejo</b> Trabajo del estudiante	<b>1%</b>
<b>5</b>	<b>repositorio.uladech.edu.pe</b> Fuente de Internet	<b>1%</b>
<b>6</b>	<b>repositorio.unsa.edu.pe</b> Fuente de Internet	<b>1%</b>
<b>7</b>	<b>portal.amelica.org</b> Fuente de Internet	<b>1%</b>
<b>8</b>	<b>repositorio.ug.edu.ec</b> Fuente de Internet	<b>1%</b>

9	<a href="http://revplantasmedicinales.sld.cu">revplantasmedicinales.sld.cu</a> Fuente de Internet	<1 %
10	<a href="http://dspace.espoch.edu.ec">dspace.espoch.edu.ec</a> Fuente de Internet	<1 %
11	<a href="http://dspace.utpl.edu.ec">dspace.utpl.edu.ec</a> Fuente de Internet	<1 %
12	Submitted to Universidad Andina del Cusco Trabajo del estudiante	<1 %
13	Submitted to Universidad Nacional Federico Villarreal Trabajo del estudiante	<1 %
14	<a href="http://repositorio.unfv.edu.pe">repositorio.unfv.edu.pe</a> Fuente de Internet	<1 %
15	<a href="http://repositorio.utc.edu.ec">repositorio.utc.edu.ec</a> Fuente de Internet	<1 %
16	<a href="http://www.researchgate.net">www.researchgate.net</a> Fuente de Internet	<1 %
17	Submitted to Universidad San Ignacio de Loyola Trabajo del estudiante	<1 %
18	<a href="http://alimentos-autoctonos.fabro.com.mx">alimentos-autoctonos.fabro.com.mx</a> Fuente de Internet	<1 %
19	<a href="http://www.dspace.uce.edu.ec:8080">www.dspace.uce.edu.ec:8080</a> Fuente de Internet	<1 %

20	<a href="https://es.scribd.com">es.scribd.com</a> Fuente de Internet	<1 %
21	Submitted to Universidad Cientifica del Sur Trabajo del estudiante	<1 %
22	<a href="https://repositorio.uap.edu.pe">repositorio.uap.edu.pe</a> Fuente de Internet	<1 %
23	<a href="https://repositorio.uncp.edu.pe">repositorio.uncp.edu.pe</a> Fuente de Internet	<1 %
24	<a href="https://tesis.ucsm.edu.pe">tesis.ucsm.edu.pe</a> Fuente de Internet	<1 %
25	Submitted to Universidad Alas Peruanas Trabajo del estudiante	<1 %
26	Submitted to Universidad Nacional de Trujillo Trabajo del estudiante	<1 %
27	<a href="https://repositorio.upads.edu.pe">repositorio.upads.edu.pe</a> Fuente de Internet	<1 %
28	<a href="http://www.sabiia.cnptia.embrapa.br">www.sabiia.cnptia.embrapa.br</a> Fuente de Internet	<1 %
29	<a href="https://1library.co">1library.co</a> Fuente de Internet	<1 %
30	<a href="https://doczz.com.br">doczz.com.br</a> Fuente de Internet	<1 %
31	<a href="https://pesquisa.bvsalud.org">pesquisa.bvsalud.org</a> Fuente de Internet	<1 %

32	<a href="https://www.slidehtml5.com">slidehtml5.com</a> Fuente de Internet	<1 %
33	Natalia Muñoz-Vigueras, Irene Torres-Sánchez, Paula Obeso-Benitez, Esther Prados-Román et al. "Ventilatory, phonatory and swallowing impairments in advanced neuromuscular disease patients", Revista de Logopedia, Foniatría y Audiología, 2023 Publicación	<1 %
34	Submitted to Universidad Católica de Santa María Trabajo del estudiante	<1 %
35	<a href="https://moam.info">moam.info</a> Fuente de Internet	<1 %
36	<a href="https://repositorio.unap.edu.pe">repositorio.unap.edu.pe</a> Fuente de Internet	<1 %
37	<a href="http://www.dspace.uce.edu.ec">www.dspace.uce.edu.ec</a> Fuente de Internet	<1 %
38	<a href="https://convibra.org">convibra.org</a> Fuente de Internet	<1 %
39	<a href="https://repositorio.unsch.edu.pe">repositorio.unsch.edu.pe</a> Fuente de Internet	<1 %
40	<a href="https://search.scielo.org">search.scielo.org</a> Fuente de Internet	<1 %

41	José Theódulo Esquivel-Grados, Clotilde Paula Venegas-Mejía, Migdonio Nicolás Esquivel-Grados, Manuel Tomás Gonzales-Benites et al. "Las muestras en investigaciones educativas. Un estudio de pertinencia y suficiencia en tesis de posgrado", HUMAN REVIEW. International Humanities Review / Revista Internacional de Humanidades, 2023 Publicación	<1 %
42	alduomo.info Fuente de Internet	<1 %
43	es.unionpedia.org Fuente de Internet	<1 %
44	file.scirp.org Fuente de Internet	<1 %
45	repositorio.unc.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
46	worldwidescience.org Fuente de Internet	<1 %

Excluir citas

Apagado

Excluir coincidencias < 10 words

Excluir bibliografía

Activo