



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

ACTIVIDAD ANTIMICÓTICA *In vitro* DEL ACEITE ESENCIAL DE LAS  
HOJAS DE *Origanum vulgare* L. (ORÉGANO) FRENTE A *Candida*  
*albicans* ATCC 10231 Y *Trichophyton rubrum* ATCC 28188

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

**AUTORES:**

Bach. PEREZ PAUCAR, PEDRO DANIEL  
Bach. CABRERA SALAZAR, YESSENIA FLORITA

**ASESOR:**

Dr. SAMANIEGO JOAQUIN, JHONNEL WILLIAMS

**LIMA – PERÚ**

**2020**

## **Dedicatoria**

Dedicado a mis padres Palmira y Manuel por ser mi guía y ejemplo de amor, dedicación y superación.

Mamá gracias por sembrar en mí el valor y la fuerza que te caracteriza, Papá sin estar presente dejaste precedente de bondad y humildad.

Cabrera Salazar, Yesenia Florita

Quiero dedicar la siguiente investigación a toda mi familia, pero especialmente a mi madre María por haber fomentado en mí, el deseo de superación y de triunfo en la vida. Y a mi novia gracias por estar a mi lado y compartir mis logros.

Perez Paucar Pedro Daniel

## **Agradecimiento**

Gracias a Dios, a mis padres, mis hermanos y ahora a mi nueva familia.

Manuel gracias por ser mi motor, motivo y razón de mis días y a ti Alain por creer en mí y ser mi compañero de vida.

Cabrera Salazar Yesenia Florita

Quiero agradecerle a Dios por otorgarme una familia maravillosa. A mis padres y hermanos que siempre han creído en mí, dándome ejemplos de superación, humildad y sacrificio; y por enseñarme a valorar todo lo que tengo.

Perez Paucar Pedro Daniel

## ÍNDICE GENERAL

<b>RESUMEN</b> .....	vi
<b>ABSTRACT</b> .....	vii
<b>I. INTRODUCCIÓN</b> .....	1
<b>II. MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	5
<b>2.1. Enfoque y diseño de investigación</b> .....	5
<b>2.2. Población, muestra y muestreo</b> .....	5
<b>2.2.1. Población</b> .....	5
<b>2.2.2. Muestra</b> .....	5
<b>2.3. Variables de investigación</b> .....	5
<b>2.4. Técnica e instrumento de recolección de datos</b> .....	6
<b>2.4.1. Técnica</b> .....	6
<b>2.4.2. Instrumento</b> .....	6
<b>2.5. Proceso de recolección de datos</b> .....	6
<b>2.6. Métodos de análisis estadísticos</b> .....	9
<b>III. RESULTADOS</b> .....	11
<b>IV. DISCUSIÓN</b> .....	17
<b>4.1. Discusión</b> .....	17
<b>4.2 Conclusiones</b> .....	18
<b>4.3 Recomendaciones</b> .....	18
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	19
<b>ANEXOS</b> .....	24
<b>Anexo A. Operacionalización de la variable o variables</b> .....	24
<b>Anexo B. Instrumentos de recolección de datos</b> .....	25
<b>Anexo C. Evidencias de trabajo de campo</b> .....	26

## Índice de tablas

<b>Tabla 1.</b> Resultados del tamizaje fitoquímico. ....	11
<b>Tabla 2.</b> Resultados del ensayo antimicrobiano frente a <i>Candida albicans</i> . ....	12
<b>Tabla 3.</b> Resultados del ensayo microbiológico frente a <i>Trichophyton rubrum</i> . ....	13
<b>Tabla 4.</b> Prueba de normalidad por el test de Shapiro Wilk .....	14
<b>Tabla 5.</b> Test de Levene. ....	15
<b>Tabla 6.</b> Comparaciones múltiples por el test de Dunnett. ....	16

## Índice de anexos

<b>Anexo A.</b> Operacionalización de la variable o variables .....	24
<b>Anexo B.</b> Instrumentos de recolección de datos.....	25
<b>Anexo C.</b> Evidencias de trabajo de campo .....	26

## RESUMEN

**Objetivo:** La presente investigación plantea el objetivo de determinar la actividad antimicótica in vitro del aceite esencial de las hojas de *Origanum vulgare L.* (Orégano) frente a *Candida albicans* ATCC 10231 y *Trichophyton rubrum* ATCC 28188.

**Material y método:** El método usado para determinar la actividad antimicótica fue Kirby-Bauer y en el caso del tamizaje fitoquímico fue mediante reacciones de coloración y precipitación. El ensayo microbiológico es de tipo experimental, cuenta con un diseño de experimento puro y es de corte transversal. El ensayo requirió del uso de 10 repeticiones y tuvo los grupos A: Aceite esencial de las hojas de *Origanum vulgare L.* (Orégano) al 100 %; B: 50 %; C: 25 %; D: Fluconazol y E: Control.

**Resultados:** Los resultados indican que el aceite esencial de las hojas de *Origanum vulgare L.* (Orégano) presentan compuestos fenólicos, taninos, triterpenos y esteroides. El ensayo microbiológico por el método de Kirby-Bauer evidenció que el aceite esencial de las hojas de *Origanum vulgare L.* (Orégano) al 25, 50 y 100% evidenciaron halos de inhibición de 8.86, 10.24 y 15.82 mm frente a una cepa de *Candida albicans* ATCC 10232 y el fármaco fluconazol presentó un halo de 28.30 mm. Frente a la cepa de *Trichophyton rubrum* ATCC 28188, el aceite esencial de las hojas de *Origanum vulgare L.* (Orégano) al 25, 50 y 100% evidenciaron halos de inhibición de 9.64, 10.91 y 17.93 mm y el fluconazol presentó un halo de 21.79 mm.

**Conclusiones:** Se concluye que el aceite esencial de las hojas de *Origanum vulgare L.* (Orégano) al 25, 50 y 100% presentan efecto antimicótico frente a cepas de *Trichophyton rubrum* ATCC 28188 y *Candida albicans* ATCC 10232.

**Palabras clave:** *Origanum vulgare L.*; antimicótico; aceite esencial.

## ABSTRACT

**Objective:** The present investigation raises the objective to determine the in vitro antifungal activity of the essential oil of the leaves of *Origanum vulgare L.* (Oregano) against *Candida albicans* ATCC 10231 and *Trichophyton rubrum* ATCC 28188.

**Material and Method:** The method used to determine the antifungal activity was Kirby-Bauer and in the case of phytochemical screening it was through staining and precipitation reactions. The microbiological test is experimental, has a pure experimental design and is cross-sectional. The test required the use of 10 repetitions and had the groups A: Essential oil of the leaves of *Origanum vulgare L.* (Oregano) at 100%; B: 50%; C: 25%; D: Fluconazole and E: Control.

**Results:** The results were that the essential oil of the leaves of *Origanum vulgare L.* (Oregano) present phenolic compounds, tannins, triterpenes and steroids. The microbiological test by Kirby-Bauer method showed that the essential oil of *Origanum vulgare L.* (Oregano) leaves at 25, 50 and 100% showed inhibition halos of 8.86, 10.24 and 15.82 mm against a *Candida albicans* ATCC 10232 strain and the drug fluconazole showed a halo of 28.30 mm. In front of *Trichophyton rubrum* ATCC 28188 strain, the essential oil of *Origanum vulgare L.* (Oregano) leaves at 25, 50 and 100% showed inhibition halos of 9.64, 10.91 and 17.93 mm and fluconazole presented a halo of 21.79 mm.

**Conclusions:** It is concluded that the essential oil of leaves from *Origanum vulgare L.* (Oregano) at 25, 50 and 100% present antifungal effect against strains of *Trichophyton rubrum* ATCC 28188 and *Candida albicans* ATCC 10232.

**Keywords:** *Origanum vulgare L.*; antifungal; essential oil.

## I. INTRODUCCIÓN

Los hongos son un amplio grupo de microorganismos que carecen de capacidad de producir sus propios nutrientes, eso los obliga a mantener una vida parasitaria, en la que muchas veces ocasionan enfermedades denominadas, micosis (1), este tipo de infección se ha incrementado durante los últimos años, siendo la especie *Candida*, la principal causante, ocasionando entre un 20 a 50% de los casos (2). En Estados Unidos un 50% de pacientes en UCI (Unidad de cuidados intensivos) padece de candidiasis por *C. albicans*, mientras que en Sudamérica solo representa entre un 1.4 a 5.2% (3), y en el Perú, se reportan de 1 a 2.6 casos por 1000 ingresos a hospitales (2). A pesar de que generalmente se reportan casos de micosis sistémica, otros estudios resaltan la importancia y gravedad de las micosis superficiales o de piel, entre ellas tenemos las micosis en los pies ocasionadas por hongos del género *Trichophyton*, con una prevalencia mundial del 70% y del 10% en países desarrollados (4), en Latinoamérica, esta información aún no está muy detallada pero algunos estudios evidencian que *C. albicans* juntos con *T. rubrum*, son las especies que más afectan a la población de países como Argentina (5) y Perú, pero en este último las cifras no han sido actualizadas (6), en Chile, *C. albicans* es la principal causante de candidiasis orofaríngea en pacientes con virus de inmunodeficiencia humana (VIH) positivo, y a su vez *T. rubrum*, se relaciona con la dermatofitosis o tiñas, el cual atacan en mayor medida a los pacientes varones con una relación de 3 a 1 sobre pacientes femeninos (7). Otro tipo de infección micótica, es la micosis cutánea congénita, el cual ataca a un 25% de las mujeres embarazadas y es provocado principalmente por *C. albicans* (8). Ante el avance en la sociedad de este tipo de infección por microorganismos, se ha estado buscando otras medidas terapéuticas las cuales sean de fácil acceso a la población, una de ellas es el uso del aceite esencial de *Origanum vulgare L.*, el cual es una planta aromatizante usada en la preparación de alimentos, pero también en la medicina tradicional para el tratamiento de problemas respiratorios, digestivos e incluso como antimicrobiano (9). El aceite esencial que presenta es el recurso más importante, debido a que contiene sustancias como carvacrol y terpineno-4-ol; en nuestro país esta especie vegetal está ampliamente distribuida, principalmente por los departamentos del sur como Arequipa, Moquegua y Tacna (10), por su amplio uso y fácil adaptación al medio, esta planta es candidata como un posible tratamiento



ante problemas de salud pública, como las micosis superficiales y debido a lo antes expuesto se plantea determinar la actividad antimicótica *in vitro* del aceite esencial de las hojas de *Origanum vulgare L.* (Orégano) frente a *Candida albicans* y *Trichophyton rubrum*.

El orégano es una planta aromática originaria del continente europeo, también crece en la zona sur de nuestro país (11), su uso no es exclusivo en la preparación de alimentos, ya que se utiliza en medicina tradicional debido a sus componentes químicos como flavonoides, taninos, esteroides y terpenoides (12), los componentes en el aceite esencial son el timol, 4-terpineol, carvacrol, p-cimeno, beta- cariofileno, oxido beta – cariofileno y gamma terpineno (12), estas son las responsables de una amplia variedad de uso terapéutico como en la indigestión (13); antioxidante, carminativo, expectorante, estimulante (14) y contra diversas infecciones por bacterias, virus y hongos (15). En este último efecto terapéutico, para tratar infecciones por *Candida albicans*, el cual es un microorganismo que cuenta con capacidad de resistir el efecto de diversos medicamentos ocasionando una serie de enfermedades sistémicas y superficiales; es agente etiológico de la candidiasis, enfermedad intrahospitalaria (16), ocasionada por el uso de catéteres intravenosos (17). El tratamiento en esta infección nosocomial se encuentran el fluconazol (18). Otra especie de hongo que está constituyendo un problema de salud pública es *Trichophyton rubrum*, agente etiológico de la dermatofitosis crónica, enfermedad el cual se trata con medicamentos antimicóticos que cada año aumenta la resistencia disminuyendo la efectividad y asimismo un incremento de la toxicidad en los pacientes que los utilizan (19).

Villavicencio J, *et al.* (2016) quien obtuvo el aceite esencial de dicha especie vegetal por arrastre de vapor y evaluó su efecto antimicótico *in vitro* ante *C. albicans*, obteniendo resultados favorables (20); estos resultados son similares a los obtenidos por Alca (2018) quien utilizo el aceite esencial de *O. vulgare L.*, contra cepas de *C. albicans* y también en asociación con el aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* (canela), obteniendo óptimos efectos antimicóticos en ambas pruebas (21), por otro lado Cuzco y Chico (2015) quienes luego de someter el aceite esencial de *O. vulgare L.* contra cepas de *Rhizoctonia solani*, se inhibió el crecimiento de este en un 97% al cuarto día de estudio (22), otros estudios como el de Baj, *et al.* (2020) quienes evidencian el efecto antimicótico del aceite esencial

de *Origanum vulgare L.*, ante cepas bucales de *Candida spp* atribuyéndole la actividad a sus componentes químicos como carvacrol 1,8 cineol, alfa pineno y monoterpenos fenólicos (23), al igual que Florin, *et al.* (2016) quienes identificaron a través de cromatografía de gases, algunas sustancias como el transcariofileno y sabineno, luego de obtener la actividad antimicótica del aceite esencial a una dosis de 0.5 mg/L (24), por último Tapiero *et al.* (2019) luego de obtener el aceite esencial por la técnica de hidrodestilación asistida por microondas, identificaron por cromatografía de gases, algunos agentes volátiles como p-cimeno, terpinen-4-ol, carvacrol y timol (25).

Este estudio tiene la finalidad practica de aportar de manera científica en el área de la fitomedicina, debido a que presenta al aceite esencial de *Origanum vulgare L* como una alternativa atractiva en el tratamiento contra infecciones emergentes como las micosis, además reforzara el conocimiento sobre los diversos constituyentes químicos que se encuentran presentes en estas sustancias, el cual sirve de modelo para la formulación de una nueva familia de medicamentos. Asimismo, se realizará un aporte a la comunidad ofreciendo información científica sobre las bondades del aceite esencial, el cual significa una alternativa económica y de fácil acceso para la población que no cuenta con los suficientes recursos económicos para acceder a un determinado tratamiento médico; por otro lado para lograr a los objetivos del estudio se acude al empleo de técnicas de investigación, uso de instrumentos validados y su procesamiento en un software.

El objetivo general de este estudio es determinar la actividad antimicótica *in vitro* del aceite esencial de las hojas de *Origanum vulgare L.* (Orégano) frente a *Candida albicans* ATCC 10231 y *Trichophyton rubrum* ATCC 28188.

Los objetivos específicos son:

Determinar los tipos de metabolitos secundarios presentes en el aceite esencial de las hojas de *Origanum vulgare L.* (Orégano).

Evaluar la actividad antimicótica del aceite esencial de las hojas de *Origanum vulgare L.* (Orégano) al 25 %, 50 % y 100 % sobre cepas de *Candida albicans* ATCC 10231 y *Trichophyton rubrum* ATCC 28188.

Comparar la actividad antimicótica del aceite esencial de las hojas de *Origanum vulgare* L. (Orégano) frente a discos de fluconazol sobre cepas de *Candida albicans* ATCC 10231 y *Trichophyton rubrum* ATCC 28188.

Como hipótesis general del estudio se plantea que el aceite esencial de las hojas de *Origanum vulgare* L. (Orégano) presenta actividad antimicótica *in vitro* significativamente favorable frente a *Candida albicans* ATCC 10231 y *Trichophyton rubrum* ATCC 28188.

## II. MATERIALES Y MÉTODOS

### 2.1. Enfoque y diseño de investigación

La presente investigación es de enfoque cuantitativo. Diseño experimental, ya que la investigación planteada pretende manipular de manera intencional a las variables independiente, aceite esencial de las hojas de *Origanum vulgare*, con la variable dependiente (actividad antimicótica *in vitro*) para evidenciar la relación tipo causa-efecto (26). Además, este estudio es analítico, ya que se trabajará con más de una variable. Esta investigación presenta un nivel aplicativo de corte transversal, ya que se pretende dar una solución directa a un problema específico al evaluar el aceite esencial de las hojas de *Origanum vulgare* como antimicótico (27).

### 2.2. Población, muestra y muestreo

#### 2.2.1. Población

- 25 arbustos de *Origanum vulgare* (Orégano) colectada en la provincia de Jorge Basadre en la región Tacna.
- Cepas fúngicas de *Candida albicans* ATCC 10232 y *Trichophyton rubrum* ATCC 28188

#### 2.2.2. Muestra

- 5000 g de las hojas de *Origanum vulgare* (Orégano) colectada en la provincia de Jorge Basadre en la región Tacna
- 1 Kwik stik de las cepas fúngicas de *Candida albicans* ATCC 10232 y *Trichophyton rubrum* ATCC 28188

### 2.3. Variables de investigación

**Independiente:** Concentración del aceite esencial de las hojas de *Origanum vulgare* (Orégano)

**Dependiente:** Efecto antimicótico *in vitro*.

### **2.3.1 Definición conceptual**

**Independiente:** Es el líquido oleoso e insoluble extraído de las hojas de la especie vegetal *Origanum vulgare*.

**Dependiente:** Es la capacidad de una sustancia para inhibir el crecimiento o eliminar a un hongo.

### **2.3.2 Definición operacional**

**Independiente:** Se realizará una destilación por arrastre de vapor de las hojas de la especie vegetal *Origanum vulgare*.

**Dependiente:** Se inocularán placas petri con las cepas fúngicas de *Candida albicans* ATCC 10232 y *Trichophyton rubrum* ATCC 28188 y se expondrán las sustancias experimentales.

## **2.4. Técnica e instrumento de recolección de datos**

### **2.4.1. Técnica**

La técnica de estudio metodológico consiste en la observación y la aplicación de técnicas y procedimientos analíticos como la destilación por arrastre de vapor con agua, tamizaje fitoquímico y el método de difusión en agar denominado Kirby-Bauer.

### **2.4.2. Instrumento**

El instrumento consiste en una ficha de observación *ad hoc* para registrar el análisis microbiológico del aceite esencial de las hojas de *Origanum vulgare* (Orégano).

## **2.5. Proceso de recolección de datos**

### **2.5.1. Autorización y coordinaciones previas para la recolección de datos**

Para la ejecución del presente estudio se solicitó una carta de presentación correspondiente a la Universidad María Auxiliadora, con el que se gestionó los permisos para los ensayos mencionados.

## 2.5.2. Aplicación de instrumento(s) de recolección de datos

**Recolección y clasificación taxonómica:** La especie botánica *Origanum vulgare* (Orégano) fue colectada en un lugar con las coordenadas 17°18'54"S 70°26'21"O ubicado en la comunidad campesina de Borogueña, distrito de Ilabaya, provincia de Jorge Basadre en la región Tacna. Esta planta se colectó en horas de la mañana con ausencia total de lluvia y con ayuda de una tijera de acero inoxidable. La planta se limpió y guardó en un recipiente de material adsorbente y agujereado para ser transportado a Lima. El espécimen botánico colectado se identificó y clasificó taxonómicamente en el Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

**Tratamiento postcosecha y extracción:** Las hojas se seleccionaron para eliminar aquellas que presenten signos de descomposición o se encuentren incompletas. Las hojas seleccionadas se limpiaron y se procedió a pesar.

**Arrastre de vapor con agua:** Luego las hojas se llevaron a un balón de vidrio con agua para la posterior ejecución de una destilación por arrastre de vapor por 6 horas (29). Después, los líquidos inmiscibles condensados resultantes en el matraz recolector se separaron por decantación. El líquido amarillento acumulado en la superficie se desecó con sulfato de sodio anhidro y luego se almacenó en refrigeración para su posterior uso.

**Tamizaje fitoquímico:** Se ejecutaron reacciones de coloración y precipitación con el aceite esencial de las hojas de *Origanum vulgare* L (Orégano) según los métodos descritos por Lock (30). Se preparó 10 ml de una solución del aceite esencial de las hojas de *Origanum vulgare* L (Orégano) y se vertió 0.5 ml en 15 tubos diferentes.

## **Ensayo antimicótico**

**Preparación del estándar 0.5 de McFarland:** Se elaboró una solución de cloruro de bario 0.048 M y para ello, se pesó 0.499 g de cloruro de bario y posteriormente se disolvió con agua destilada en un matraz aforado de 50 ml. Se elaboró una solución de ácido sulfúrico 0.18 M y para ello, se disolvió 1.01 ml de ácido sulfúrico concentrado en un matraz aforado de 100 ml. El estándar 0.5 de McFarland se obtuvo disolviendo 0.5 ml de la solución de cloruro de bario 0.048 M con 95.5 ml de ácido sulfúrico 0.18M.

**Preparación del inóculo:** Se pesó 2.4 g de caldo deshidratado de papa dextrosa para luego ser disuelto con 100 ml de agua destilada. La solución resultante contenida en un frasco de vidrio transparente se esterilizó en una autoclave a 121°C durante 15 min. (Indicación del fabricante). El caldo esterilizado se vertió a un tubo de ensayo después de enfriarse. Las cepas de *Candida albicans* ATCC 10232 y *Trichophyton rubrum* ATCC 28188 se reconstituyeron e incubaron en agar sabouraud y luego de 72 horas se tomó una colonia con un asa de siembra (asa de kohle) calibrada de 10 µl para ser vertida sobre el caldo de papa dextrosa preparado y se homogenizó el mismo con el asa de siembra. La cepa suspendida en el caldo se incubó a 30°C por 48 horas. El caldo resultante presentó una turbidez (evidencia del crecimiento del hongo) después de las 48 horas de incubación. La turbidez del mismo se ajustó a la turbidez con solución salina (NaCl 0.9 %) del estándar previamente preparado (0.5 McFarland), por comparación visual, se observaron los tubos delante de un fondo blanco con líneas negras para un mejor contraste. Con el objetivo de que la suspensión preparada presente cerca de 1 a 2 x 10<sup>8</sup> UFC/ml de la cepa *Candida albicans* ATCC 10231 y *Trichophyton rubrum* ATCC 28188 (31).

**Inoculación de las Placas:** Se disolvió 32.5 g de agar dextrosa sabouraud en 500 ml de agua destilada. La solución resultante contenida en un frasco de vidrio transparente se esterilizó en la

autoclave a 121° C durante 15 min. (Indicación del fabricante). Después de este proceso, la solución resultante se vertió aproximadamente 25 ml en 10 placas petri estériles de 90 x 15 mm para luego dejarlas en reposo hasta lograr que gelifiquen, para cada hongo. Dentro de los 15 minutos siguientes al ajuste de la turbidez del inóculo, se procedió a sumergir un asa de siembra calibrada de 10 µl para inocular a las 10 placas con agar dextrosa sabouraud, estriando con el asa de siembra en tres direcciones para asegurar una distribución uniforme del inóculo.

**Preparación de los discos:** Los discos que se usaron para este ensayo fueron con papel filtro whatman N° 1 de 9 mm de diámetro esterilizados. Se prepararon 3 grupos: grupos experimentales 1; 2 y 3 además de fluconazol (50 µg). Los grupos experimentales se prepararon de la siguiente manera

El grupo experimental 1: 250 µl de aceite esencial de las hojas de *Origanum vulgare* L (Orégano) + 750 µl de dimetilsulfóxido

El grupo experimental 2: 500 µl de aceite esencial de las hojas de *Origanum vulgare* L (Orégano) + 500 µl de dimetilsulfóxido

El grupo experimental 3: 1000 µl de aceite esencial de las hojas de *Origanum vulgare* L (Orégano).

Los discos se embebieron con los aceites esenciales a diferentes concentraciones para luego ser puestos sobre la superficie de las placas previamente inoculadas con cada una de las cepas (31).

## 2.6. Métodos de análisis estadísticos

Los datos recolectados se ordenaron y posteriormente registrados en el software *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS) en su versión 25 para su procesamiento. Se usó de estadística descriptiva para determinar elementos de tendencia central y dispersión. Además, se usó estadística inferencial para la contrastación de la hipótesis propuesta en la presente investigación. Para evidenciar la diferencia entre las medias de los halos de



inhibición de los diferentes grupos del ensayo antimicótico se usó ANOVA y posteriormente se usó de la prueba de Tukey para realizar múltiples comparaciones y evaluar si los grupos experimentales tienen mayor halo de inhibición estadísticamente significativa.

## **2.7 Aspectos éticos**

Se tomó en cuenta las normas y metodologías sobre la manipulación, transporte, utilización, descontaminación y eliminación de desechos por ser un estudio de carácter microbiológico.

### III. RESULTADOS

#### 3.1. Tamizaje fitoquímico

En la siguiente tabla se muestra con detalle los resultados obtenidos del tamizaje fitoquímico del aceite esencial de las hojas de *Origanum vulgare* (Orégano).

**Tabla 1.** Resultados del tamizaje fitoquímico.

N°	Ensayo	Metabolito	Resultado
1	Borntrager	Quinonas	-
2	FeCl <sub>3</sub>	Compuestos fenólicos	+
3	Shinoda	Flavonoides	-
4	NaOH 10%	Antocianinas	-
5	Gelatina	Taninos	++
6	Gelatina Sal	Taninos	++
7	Wagner	Alcaloides	-
8	Mayer	Alcaloides	-
9	Liebermann Burchard	Triterpenos y Esteroides	+
10	Baljet	Lactonas $\alpha,\beta$ -insaturadas	-
11	Benedict	Azucares Reductores	-
12	Fehling	Azucares Reductores	-
13	Espuma	Saponinas	-

Negativo (-), Positivo (+), Moderado (++), Abundante (+++)

**Fuente:** Elaboración propia, 2020

La tabla anterior muestra que el tamizaje fitoquímico del aceite esencial de las hojas de *Origanum vulgare* (Orégano) presenta compuestos fenólicos, taninos y triterpenos-esteroides.

### 3.2. Ensayo microbiológico

La siguiente tabla muestra a detalle los resultados del ensayo microbiológico para determinar el efecto antimicótico *in vitro* del aceite esencial de las hojas de *Origanum vulgare* L. (Orégano) frente a una cepa de *Candida albicans* ATCC 10232.

**Tabla 2.** Resultados del ensayo antimicrobiano frente a *Candida albicans*.

Frente a <i>Candida albicans</i> ATCC 10232					
Orden	Control	Fluconazol	Aceite esencial 25 %	Aceite esencial 50 %	Aceite esencial 100 %
1	6	28,43	8,88	10,17	15,79
2	6	28,23	8,62	10,13	15,53
3	6	28,24	8,70	10,16	15,73
4	6	28,48	8,89	10,36	15,93
5	6	28,32	9,16	10,34	15,90
6	6	28,40	9,46	10,27	15,74
7	6	28,20	8,99	10,20	15,95
8	6	28,34	8,89	10,44	15,99
9	6	28,09	8,22	10,12	15,87
10	6	28,28	8,78	10,18	15,75
Media	6	28,30	8,86	10,24	15,82

La tabla anterior muestra que, según el ensayo microbiológico, el aceite esencial de las hojas de *Origanum vulgare* (Orégano) al 25, 50 y 100% evidenciaron halos de inhibición de 8.86, 10.24 y 15.82 mm frente a una cepa de *Candida albicans* ATCC 10232. Pero el fármaco fluconazol presentó un halo de 28.30 mm.

La siguiente tabla muestra a detalle los resultados del ensayo microbiológico para determinar el efecto antimicótico *in vitro* del aceite esencial de las hojas de *Origanum vulgare* (Orégano) frente a una cepa de *Trichophyton rubrum* ATCC 28188.

**Tabla 3.** Resultados del ensayo microbiológico frente a *Trichophyton rubrum*.

<b>Frente a <i>Trichophyton rubrum</i> ATCC 28188</b>					
<b>Orden</b>	<b>Control</b>	<b>Fluconazol</b>	<b>Aceite esencial 25 %</b>	<b>Aceite esencial 50 %</b>	<b>Aceite esencial 100 %</b>
1	6	21,78	9,44	10,85	17,90
2	6	21,68	9,40	10,81	17,84
3	6	21,77	9,75	10,95	17,96
4	6	21,75	9,68	10,91	17,92
5	6	21,73	9,38	10,78	17,83
6	6	21,70	9,31	10,75	17,82
7	6	21,90	9,88	11,02	18,01
8	6	21,93	9,92	11,04	18,03
9	6	21,69	9,65	10,89	17,92
10	6	21,96	9,98	11,11	18,10
<b>Media</b>	6	21,79	9,64	10,91	17,93

La tabla anterior muestra que, según el ensayo microbiológico, el aceite esencial de las hojas de *Origanum vulgare* (Orégano) al 25, 50 y 100% evidenciaron halos de inhibición de 9.64, 10.91 y 17.93 mm frente a una cepa de *Trichophyton rubrum* ATCC 28188. Pero el fármaco fluconazol presentó un halo de 21.79 mm.

Para determinar el estadístico necesario para alcanzar el objetivo planteado en esta investigación es necesario determinar si existe distribución normal en los resultados del ensayo microbiológico y en la siguiente tabla se muestra el test de Shapiro Wilk, para tal fin.

**Tabla 4.** Prueba de normalidad por el test de Shapiro Wilk

<b>Pruebas de normalidad<sup>a,c</sup></b>				
	Grupos	Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	<b>Sig.</b>
Halos de inhibición frente a <i>Candida albicans</i>	Fluconazol	,984	10	<b>,983</b>
	Aceite 25%	,962	10	<b>,808</b>
	Aceite 50%	,893	10	<b>,185</b>
	Aceite 100%	,928	10	<b>,433</b>
Halos de inhibición frente a <i>Trichophyton rubrum</i>	Fluconazol	,868	10	<b>,095</b>
	Aceite 25%	,919	10	<b>,350</b>
	Aceite 50%	,965	10	<b>,839</b>
	Aceite 100%	,943	10	<b>,592</b>
*. Esto es un límite inferior de la significación verdadera.				
a. Halos de inhibición es constante cuando Grupos = Control. Se ha omitido.				
b. Corrección de significación de Lilliefors				
c. Halos de inhibición <sup>2</sup> es constante cuando Grupos = Control. Se ha omitido.				

La tabla anterior muestra que según el test de Shapiro Wilk los valores de significancia asintótica bilateral es mayor al 0.05. Por esto, se puede concluir si existe distribución normal en los resultados del ensayo microbiológico para determinar el efecto antimicótico del aceite esencial de las hojas de *Origanum*

*vulgare* (Orégano) frente a cepas de *Candida albicans* ATCC 10232 y *Trichophyton rubrum* ATCC 28188.

Para determinar el estadístico necesario para alcanzar el objetivo planteado en esta investigación es necesario determinar si existe homogeneidad de varianzas en los resultados del ensayo microbiológico. En la siguiente tabla se muestra el test de Levene.

**Tabla 5.** Test de Levene.

<b>Prueba de homogeneidad de varianzas</b>				
	Estadístico de Levene	df1	df2	<b>Sig.</b>
Halos de inhibición frente a <i>Candida albicans</i>	4,903	4	45	<b>,002</b>
Halos de inhibición frente a <i>Trichophyton rubrum</i>	12,013	4	45	<b>,000</b>

df: degrees of freedom (grados de libertad)

La tabla anterior muestra que según el test de Levene la significancia asintótica bilateral es menor al 0.05. Por esto, se puede deducir que no existe homogeneidad de varianzas en los resultados del ensayo microbiológico para determinar el efecto antimicótico del aceite esencial de las hojas de *Origanum vulgare* (Orégano) frente a cepas de *Candida albicans* ATCC 10232 y *Trichophyton rubrum* ATCC 28188.

La prueba estadística elegida para alcanzar el objetivo planteado en esta investigación fue el estadístico paramétrico T3 de Dunnett para hacer comparaciones múltiples entre el grupo control con los grupos experimentales. La siguiente tabla muestra a detalle el test de Dunnett.

**Tabla 6.** Comparaciones múltiples por el test de Dunnett.

	(I) Grupos	(J) Grupos	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	95% de intervalo de confianza	
						Límite inferior	Límite superior
Halos de inhibición frente a <i>Candida albicans</i>	Control	Fluconazol	-22,30100*	,03716	,000	-22,4330	-22,1690
		Aceite 25%	-2,85900*	,10372	,000	-3,2274	-2,4906
		Aceite 50%	-4,23700*	,03467	,000	-4,3602	-4,1138
		Aceite 100%	-9,81800*	,04361	,000	-9,9729	-9,6631
	Fluconazol	Control	22,30100*	,03716	,000	22,1690	22,4330
		Aceite 25%	19,44200*	,11018	,000	19,0692	19,8148
		Aceite 50%	18,06400*	,05083	,000	17,9037	18,2243
		Aceite 100%	12,48300*	,05730	,000	12,3019	12,6641
Halos de inhibición frente a <i>Trichophyton rubrum</i>	Control	Fluconazol	-15,78900*	,03274	,000	-15,9053	-15,6727
		Aceite 25%	-3,63900*	,07742	,000	-3,9140	-3,3640
		Aceite 50%	-4,91100*	,03758	,000	-5,0445	-4,7775
		Aceite 100%	-11,93300*	,02933	,000	-12,0372	-11,8288
	Fluconazol	Control	15,78900*	,03274	,000	15,6727	15,9053
		Aceite 25%	12,15000*	,08406	,000	11,8693	12,4307
		Aceite 50%	10,87800*	,04984	,000	10,7206	11,0354
		Aceite 100%	3,85600*	,04396	,000	3,7173	3,9947

La tabla anterior muestra que según el test de Dunnett el valor de significancia asintótica menor al 0.05. Por esto, se puede concluir que existen diferencias estadísticamente significativas entre los grupos con aceite esencial de las hojas de *Origanum vulgare* (Orégano) al 25,50 y 100% frente a cepas de *Candida albicans* ATCC 10232 y *Trichophyton rubrum* ATCC 28188.

## IV. DISCUSIÓN

### 4.1. Discusión

En la presente investigación se evidenció que, mediante reacciones de coloración y precipitación, el aceite esencial de las hojas de *Origanum vulgare* (Orégano) presenta compuestos fenólicos, taninos y triterpenos-esteroides. De la misma manera, Venkateswara *et al* (2011) aislaron e identificaron dos triterpenos y un esteroide mediante técnicas cromatográficas y espectroscópicas a partir del aceite esencial de las hojas de *Origanum vulgare*, proveniente de la India. (32) En este mismo sentido, Bokov *et al* (2020) evidenciaron la presencia de taninos y compuestos fenólico en el aceite esencial de las hojas de *Origanum vulgare* mediante técnicas de coloración sobre un cromatofolio con silicagel. (33) Además, Van-Der-Mheen *et al* (2010) identificó algunos compuestos terpénicos y algunos otros fenólicos en el aceite esencial de las hojas de *Origanum vulgare*, proveniente de Holanda, mediante técnicas espectroscópicas. (34) Las investigaciones anteriormente citadas apoyan los resultados de la presente investigación, aunque todas las muestras sean de diferente origen. Esto, puede sugerir que estos tipos de compuestos son tipos de metabolitos característicos de la especie.

El aceite esencial de las hojas de *Origanum vulgare* (Orégano) al 25, 50 y 100% evidenciaron halos de inhibición de 8.86, 10.24 y 15.82 mm frente a una cepa de *Trichophyton rubrum* ATCC 28188. Pero, fluconazol presentó un halo de 21.79 mm. De la misma manera, Assiri *et al* (2016) publicaron en una investigación que el aceite esencial de las hojas de *Origanum vulgare*, proveniente de Arabia Saudita, tiene efecto antimicótico *in vitro* con un halo de inhibición de 38 mm y una concentración mínima fungicida de 40 µg/ml frente a *Trichophyton rubrum* mediante las técnicas de disco de difusión en agar y micro dilución en caldo, respectivamente. (35) También, Lachos y Laurente (2018) evidenciaron el efecto antimicótico *in vitro* del aceite esencial de las hojas de *Origanum vulgare*, proveniente de Otuzco-La Libertad, frente a una cepa de *Trichophyton rubrum* con una concentración mínima inhibitoria de 0.125 % y una concentración mínima fungicida de 0.25 mediante la técnica de macro dilución en caldo. (36)

El aceite esencial de las hojas de *Origanum vulgare* (Orégano) al 25, 50 y 100% evidenciaron halos de inhibición de 8.86, 10.24 y 15.82 mm frente a una cepa de *Candida albicans* ATCC 10232. Pero el fármaco fluconazol presentó un halo de



28.30 mm. En este mismo sentido, Sharifzadeh *et al* (2016) evidenciaron el efecto antimicótico *in vitro* del aceite esencial de las hojas de *Origanum vulgare*, proveniente de Irán, frente a *Candida albicans* sin y con resistencia al fármaco fluconazol con una concentración mínima inhibitoria de 300 µg/ml y una concentración mínima fungicida de 400 µg/ml frente a *Candida albicans* resistente a fluconazol mediante el método de micro dilución en caldo. (37) También, Manohar *et al* (2001) en una investigación mostró el efecto antimicótico *in vitro* del aceite esencial de las hojas de *Origanum vulgare*, proveniente de Estados Unidos, frente a *Candida albicans* con una concentración mínima inhibitoria de 0.125 mg/ml y una concentración mínima fungicida de 0.25 mg/ml mediante micro dilución en caldo. (38) De la misma manera, Tampieri *et al* (2005) evidenciaron el efecto antimicótico *in vitro* del aceite esencial de las hojas de *Origanum vulgare*, proveniente de Italia, con una concentración mínima inhibitoria de 500 µg/ml y una concentración mínima fungicida de 500 µg/ml mediante el método de micro dilución en caldo. (38)

#### **4.2 Conclusiones**

El aceite esencial de las hojas de *Origanum vulgare* (Orégano) presenta compuestos fenólicos, taninos y triterpenos-esteroides.

El aceite esencial de las hojas de *Origanum vulgare* (Orégano) al 25, 50 y 100% presenta efecto antimicótico frente a una cepa de *Trichophyton rubrum* ATCC 28188 y otra de *Candida albicans* ATCC 10232.

El aceite esencial de las hojas de *Origanum vulgare* (Orégano) al 25, 50 y 100% no presenta mayor efecto antimicótico que fluconazol frente a una cepa de *Trichophyton rubrum* ATCC 28188 y otra de *Candida albicans* ATCC 10232.

#### **4.3 Recomendaciones**

Realizar investigaciones para determinar el efecto antimicótico *in vitro* del aceite esencial de las hojas de *Origanum vulgare* (Orégano) de diferentes orígenes.

Realizar investigaciones de aislamiento biodirigido con los ensayos microbiológicos para encontrar compuestos con efecto antimicótico

Realizar investigaciones para determinar el efecto antimicótico *in vivo* del aceite esencial de las hojas de *Origanum vulgare* (Orégano).

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Fernandez Conejo A, et al. Documento de consenso SEIP-AEPap-SEPEAP sobre la etiología, el diagnóstico y el tratamiento de las infecciones cutáneas micóticas de manejo ambulatorio. *Pediatr Aten Primaria*. 2016;18(72):e149–72.
2. Zurita S. Situación de la resistencia antigúngica de especies del género *Candida* en Perú. *Rev Peru MEd Exp Salud Pública*. 2018;35(1):126–31.
3. Moncada P, et al. Infección invasiva por *Candida* spp. En pacientes inmunocomprometidos: Descripción de curso clínico experiencia diagnóstica, manejo y seguimiento en centro de alta complejidad. *Infectio*. 2020;24(3):143–8.
4. Sabogal M, Jimenez H, Morales C, Alvarado Z, Colmenares C. Micosis en los pies: descripción clínico-epidemiológica en un centro de referencia de Bogotá, Colombia. *Infectio*. 2018;23(1):39.
5. González ME, et al. Estudio de micosis superficiales en la población de Villa del Prado , provincia de Córdoba , Argentina. *Dermatol argent*. 2015;21(4):264–71.
6. Luna-vílchez M, Díaz-vélez C, Baca-dejo F. Efecto del extracto acuoso , ácido y alcohólico de las hojas secas de *Erythroxylum coca* var *coca* ( *coca* ) en *Trichophyton rubrum* , *Trichophyton mentagrophytes* , *Microsporum canis* y *Candida albicans* in vitro. *Horiz Med*. 2017;17(1):25–30.
7. Cruz Choappa R, Hernan Rodriguez P, Novoa Arias R. Micosis mucocutáneas en pacientes con VIH-Sida de la ciudad de Valparaíso, Chile. *Rev Argentina Dermatología*. 2013;94(4).
8. Sanchez Padilla A, Al E. Candidosis cutánea congénita. *Dermatol Rev Mex*. 2020;64(1):96–9.
9. Morshedloo MR, Salami SA, Nazeri V, Maggi F, Craker L. Essential oil profile of oregano (*Origanum vulgare* L.) populations grown under similar soil and climate conditions. *Ind Crops Prod*. 2018;119(1):183–90.

10. Tellez Monzon L, Nolazco Cama D. Estudio de la composición química del aceite esencial de orégano ( *Origanum vulgare* spp .) de Tacna. *Ing Ind.* 2017;35(1):195–205.
11. Ordoñez Rumiche EM, Del Carpio Ramos PA, Cayo Colca IS. Suplementación alimenticia con orégano (*Origanum vulgare*) y complejo enzimático en pollos de carne: I. Indicadores Productivos. *Ucv Hacer.* 2018;7(1):1–14.
12. Pezzani R, Vitalini S, Iriti M. Bioactivities of *Origanum vulgare* L.: an update. *Phytochem Rev.* 2017;16(6):1253–68.
13. Ozdemir N, Ozgen Y, Kiralan M, Bayrak A, Arslan N, Fawzy M. Effect of different drying methods on the essential oil yield , composition and antioxidant activity of *Origanum vulgare* L . and *Origanum onites* L. *J Food Meas Charact.* 2018;12(2):820–5.
14. Pujada Abad H, Vega-Vilca J, Velásquez Vergara C, Palacios-Rodríguez B. Niveles de orégano (*Origanum vulgare*) en la dieta y su influencia en el rendimiento productivo del pollo de engorde. *Rev Investig Vet del Perú.* 2019;30(3):1077–82.
15. Morshedloo MR, Craker LE, Salami A, Nazeri V, Sang H, Maggi F. Effect of prolonged water stress on essential oil content, compositions and gene expression patterns of mono- and sesquiterpene synthesis in two oregano (*Origanum vulgare* L.) subspecies. *Plant Physiol Biochem.* 2017;111(1):119–28.
16. Dadar M, Tiwari R, Karthik K, Chakraborty S, Shahali Y, Dhama K. *Candida albicans* - Biology, molecular characterization, pathogenicity, and advances in diagnosis and control – An update. *Microb Pathog.* 2018;117(1):128–38.
17. Tong Y, Tang J. *Candida albicans* infection and intestinal immunity. *Microbiol Res.* 2017;198(1):27–35.
18. Lopez Avila K, et al. Mecanismos de resistencia antifúngica de los azoles en *Candida*. Una revision. *Rev Biomed.* 2016;27(490):127–36.

19. Rivera Rincón Y, Vargas LY, Herrera LV, Leal Pinto SM. Caracterización biológica in vitro del efecto antifúngico y citotóxico de derivados semisintéticos del eugenol contra *Trichophyton rubrum* y células de mamífero. *Rev Fac Ciencias la Salud UDES*. 2017;4(2):16.
20. Villavicencio Gastelú JE. Efecto Antimicótico in vitro de *Origanum vulgare* sobre cepas de *Candida albicans*. *Odontol Sanmarquina*. 2017;19(2):5–8.
21. Alca Y. Efectividad antifungica in vitro individual y su asociacion de los aceites esenciales *Origanum vulgare* (oregano) y *Cinnamomum zeylanicum* (canela) a diferentes concentraciones sobre *Candida albicans*, Cusco - 2018. *Vis Odontol*. 2019;6(1):44–50.
22. Cuzco Bobadilla CC, Chico-Ruíz J. Efecto antifúngico del aceite esencial de *Origanum vulgare* sobre el crecimiento micelial de *Rhizoctonia solani*. *Sagasteguina*. 2015;3(1):79–86.
23. Baj T, Biernasiuk A, Wróbel R, Malm A. Chemical composition and in vitro activity of *Origanum vulgare* L., *Satureja hortensis* L., *Thymus serpyllum* L. And *Thymus vulgaris* L. essential oils towards oral isolates of *Candida albicans* and *Candida glabrata*. *Open Chem*. 2020;18(1):108–18.
24. Rus CF, et al. Antifungal activity and chemical composition of *origanum vulgare* L. Essential oil. *Rev Chim*. 2016;67(11):2287–90.
25. Tapiero J, Salamanca G, Marín C. Analysis of volatile compounds and antioxidant activity of the essential oil of oregano (*Origanum vulgare* L.). *Adv Med Plant Res*. 2019;7(2):54–60.
26. Sampieri Hernández R, Collado Fernández C, Lucio Baptista M del P. Metodología de la investigación. 6ª edición. McGRAW-HILL / INTERAMERICANA EDITORES SADCV, editor. México D.F: Mc Graw Hill; 2014. 634 p.
27. Argimon J, Jiménez J. Métodos de investigación clínica y epidemiológica. 3rd ed. Madrid: Elsevier España; 2004. 382 p.
28. Khan M, Khan S, Khan N, Mahmood A, Al-Kedhairi A, Alkhatlan H. The

- composition of the essential oil and aqueous distillate of *Origanum vulgare* L. growing in Saudi Arabia and evaluation of their antibacterial activity. *Arab J Chem*. 2018;11(8):1189–1200.
29. Chemat F, Boutekedjiret C. Extraction//Steam Distillation [Internet]. Reference Module in Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering. Elsevier Inc.; 2015. 1–12 p. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-409547-2.11557-4>
  30. Lock O. Investigación fitoquímica: métodos en el estudio de productos naturales. 3rd ed. Lima: Pontificia universidad católica del Perú; 2016. 287 p.
  31. Instituto Nacional de Salud. Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión. Lecca Garc. Lima: Ministerio de salud; 2002. 1–67 p.
  32. Venkateswara G, Mukhopadhyay T, Annamalai T, Radhakrishnan N, Sahoo MR. Chemical constituents and biological studies of *Origanum vulgare* Linn. *Pharmacogn Res*. 2011;3(2):143–145.
  33. Bokov DO, Nizamova LA, Morokhina SL, Marakhova AI, Bobkova N V, Sergunova E V, et al. Pharmacognostic studies of *Origanum* L. species Medicinal plant raw materials. *J Pharm Technol*. 2020;9(13):4365–72.
  34. Van-Der-Mheen H, Havkin-Frenkel D, Van Den Berg W. Selection of *Origanum vulgare* plants for essential oil, carvacrol, total phenols, and antioxidant potential. *Isr J Plant Sci*. 2010;58(3–4):221–8.
  35. Assiri AMA, Elbanna K, Al-Thubiani A, Ramadan MF. Cold-pressed oregano (*Origanum vulgare*) oil: a rich source of bioactive lipids with novel antioxidant and antimicrobial properties. *Eur Food Res Technol*. 2016;242(7):1013–23.
  36. Lachos EV, Laurente KG. Efecto antimicótico in vitro del aceite esencial de *Origanum vulgare* frente a cepas de *Trichophyton rubrum*. [Trujillo]: Universidad nacional de trujillo; 2018.

37. Sharifzadeh A, Shokri H. Antifungal activity of essential oils from Iranian plants against fluconazole-resistant and fluconazole-susceptible *Candida albicans*. *Avicenna J phytomedicine*. 2016;6(2):215–22.
38. Manohar V, Ingram C, Gray J, Talpur NA, Echard BW, Bagchi D, et al. Antifungal activities of origanum oil against *Candida albicans*. *Mol Cell Biochem*. 2001;228(1–2):111–7.

## ANEXOS

### Anexo A. Operacionalización de la variable o variables

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Dimensiones	Indicadores	Escala	Valor
Aceite esencial de las hojas de <i>Origanum vulgare</i> (Orégano)	Es el líquido oleoso e insoluble extraído de las hojas de la especie vegetal <i>Origanum vulgare</i>	Se realizará una destilación por arrastre de vapor de las hojas de la especie vegetal <i>Origanum vulgare</i>	Metabolitos secundarios  Tratamiento	Quinonas Compuestos fenólicos Terpenos Alcaloides Lactonas $\alpha, \beta$ -insaturadas Taninos Antocianinas Flavonoides Saponinas  Discos de difusión	Razón	Ausencia Leve Moderado Medio Abundante  Control negativo, fluconazol y aceite esencial al 25, 50 y 100 %
Efecto antimicótico	Es la capacidad de una sustancia para inhibir el crecimiento o eliminar a un hongo	Se inocularán placas petri con las cepas fúngicas de <i>Candida albicans</i> ATCC 10232 y <i>Trichophyton rubrum</i> ATCC 28188 y se expondrán las sustancias experimentales	Inhibición del crecimiento o eliminación del hongo	Halo de inhibición (mm)	Razón	0: nulo 8 – 14 mm: Sensibilidad límite 14 – 20 mm: Medio <20 mm: Muy sensible

**Anexo B.** Instrumentos de recolección de datos

**ENSAYO MICROBIOLÓGICO IN VITRO**

**Investigador (es):** Perez Paucar, Pedro Daniel

Cabrera Salazar, Yesenia Florita

**Muestra:** Aceite esencial de las hojas de *Origanum vulgare L.* (Orégano)

**Fecha:**

<b>Frente a <i>Candida albicans</i> ATCC 10232</b>				
<b>Control Dimetilsulfóxido</b>	<b>Fluconazol 50 µg</b>	<b>Aceite esencial 25 %</b>	<b>Aceite esencial 50 %</b>	<b>Aceite esencial 100 %</b>
1				
2				
3				
4				
5				
6				
7				
8				
9				
10				
<b>Frente a <i>Trichophyton rubrum</i> ATCC 28188</b>				
1				
2				
3				
4				
5				
6				
7				
8				
9				
10				

**Fuente:** Elaboración propia

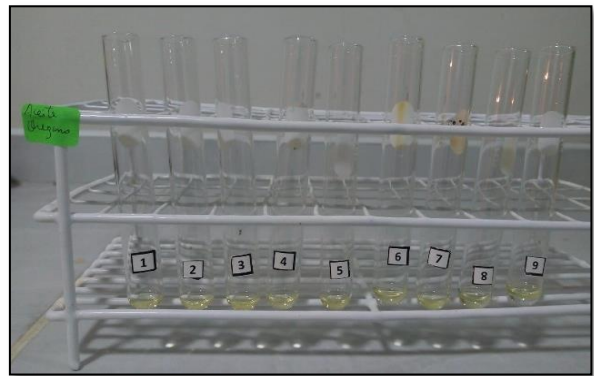
Observaciones:.....



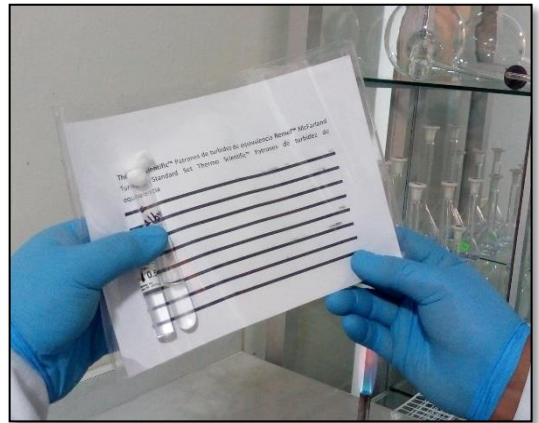
### Anexo C. Evidencias de trabajo de campo

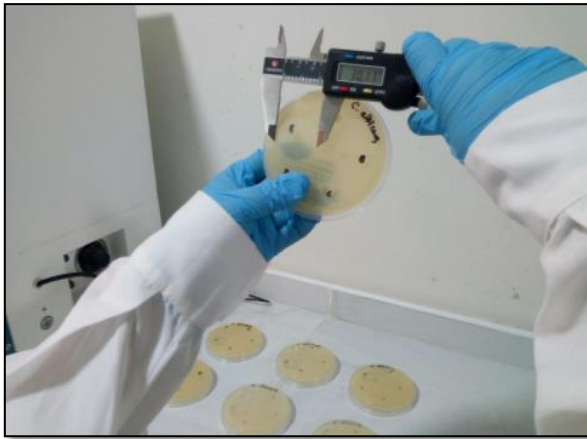


### Tratamiento y extracción de aceite esencial



### Ensayo Fitoquímico





Ensayo microbiológico