



UNIVERSIDAD PRIVADA NORBERT WIENER

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE ODONTOLOGÍA

TESIS

“EFECTIVIDAD ANTIMICÓTICA DEL ACEITE ESENCIAL ORIGANUM

VULGARE SOBRE CANDIDA ALBICANS ATCC 10231”

Presentado por:

AUTOR: Bach. CASTILLO FERNANDEZ, ROSA MARIA

2021

LIMA - PERÚ

Tesis

“Efectividad antimicótica del aceite esencial *origanum vulgare* sobre *candida albicans* ATCC10231”

Línea de Investigación

Salud, Enfermedad y Ambiente

Control y prevención de enfermedades infecciosas

Asesor

Mg.CD. Jacinto Hervias, Pedro.

CODIGO ORCID:

orcid.org/0000-0001-7661-0583

Jurado:

Presidente: CD. Murga Torreli, Nelly Aracel

Secretario: CD. Torres Pariona, David Arturo

Vocal: C.D. Machco Pasmíño, Heriberto

Dedicatoria:

Este trabajo está dedicado a mis padres que me apoyaron en todo momento y sin su ayuda no hubiera podido cumplir mi meta, a mi hermano, a mi abuelo y a mis pequeños que son muy importantes para mí.

Agradecimiento

Un agradecimiento especial a la Universidad Norbert Wiener por brindarme una educación de calidad, a mis docentes por su paciencia, y a mi asesor por guiarme en este trabajo de investigación.

INDICE

Portada
Título
Dedicatoria
Agradecimiento
Índice
Resumen
Abstract

Introducción.....	10
1. EL PROBLEMA.....	11
1.1. Planteamiento del problema.....	11
1. 2. Formulación del problema.....	12
1.2.1. Problema general.....	13
1.2.2. Problemas específicos.....	13
1.3. Objetivos de la investigación.....	13
1.3.1. Objetivo general.....	14
1.3.2. Objetivos específicos.....	14
1.4. Justificación de la investigación	15
1.5. Limitaciones de la investigación.....	15
2. MARCO TEÓRICO.....	16
2.1. Antecedentes.....	16
2.2. Base teórica.....	23
2.3. Formulación de hipótesis.....	29
3. METODOLOGÍA.....	31
3.1. Método de la investigación.....	31
3.2. Enfoque de la investigación.....	31
3.3. Tipo de investigación	31
3.4. Diseño de la investigación.....	31
3.5. Población, muestra y muestreo	32
3.6. Variables y operacionalización.....	34

3.7. Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	36
3.7.1. Técnica.....	37
3.7.2 Descripción del instrumento.....	37
3.8. Procesamiento y análisis de datos.....	39
3.9. Aspectos éticos.....	40
4. PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN.....	41
4.1. Resultados.....	41
4.1.1 Análisis descriptivo e inferencial de resultados.....	41
4.1.2 Discusion de resultados.....	51
5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	54
5.1. Conclusiones.....	54
5.2. Recomendaciones.....	55
REFERENCIAS.....	56
ANEXOS.....	
ANEXO 1: MATRIZ DE CONSISTENCIA	
ANEXO 2: MATRIZ DE OPERACIONALIZACION DE VARIABLES	
ANEXO 3: FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS	
ANEXO 4: REGISTRO SANITARIO DEL ACEITE ESENCIAL DE ORÉGANO	
ANEXO 5: CERTIFICADO DE CEPA CANDIDA ALBICANS ATCC 10231	
ANEXO 6: INFORME DE ENSAYO MICROBIOLÓGICO	
ANEXO 7: CONSTANCIA DE TRATAMIENTO DE RESIDUOS	
ANEXO 8: FOTOS	

INDICE DE TABLA

TABLA 1: Halos de inhibición del *Origanum vulgare* frente a *Candida albicans* ATCC 10231 en milímetros (mm) a las 24 horas.

TABLA 2: Comparación de estadísticos descriptivos de las mediciones de halo de inhibición en réplicas de *Origanum vulgare* frente a *Candida albicans* ATCC 10231 en milímetros a las 24 horas.

TABLA 3: Halos de inhibición del *Origanum vulgare* frente a *Candida albicans* ATCC 10231 en milímetros (mm) a las 48 horas.

TABLA 4: Comparación de estadísticos descriptivos de las mediciones de halo de inhibición en réplicas de *Origanum vulgare* frente *Candida albicans* ATCC 10231 en milímetros a las 48 horas.

TABLA 5: Halos de inhibición del *Origanum vulgare* frente a *Candida albicans* ATCC 10231 en milímetros (mm) a las 72 horas.

TABLA 6: Comparación de estadísticos descriptivos de las mediciones de halo de inhibición en réplicas de *Origanum vulgare* frente *Candida albicans* ATCC 10231 en milímetros a las 72 horas.

TABLA 7: Prueba Games Howell para comprobar la efectividad antimicótica de aceite esencial de *Origanum vulgare* frente a *Candida albicans* a las 24 horas.

TABLA 8: Prueba Games Howell para comprobar la efectividad antimicótica de aceite esencial de *Origanum vulgare* frente a *Candida albicans* a las 48 horas.

TABLA 9: Prueba Games Howell para comprobar la efectividad antimicótica de aceite esencial de *Origanum vulgare* frente a *Candida albicans* a las 72 horas.

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1: Promedio de halo de inhibición del *Origanum vulgare* y el antibiótico Nistatina frente a *Candida albicans* ATCC 10231 en milímetros (mm) a las 24 horas en agar Sabouraud.

Gráfico 2: Promedio de halo de inhibición del *Origanum vulgare* y el antibiótico Nistatina frente a *Candida albicans* ATCC 10231 en milímetros (mm) a las 48 horas en agar Sabouraud.

Gráfico 3: Promedio de halo de inhibición del *Origanum vulgare* y el antibiótico Nistatina frente a *Candida albicans* ATCC 10231 en milímetros (mm) a las 72 horas en agar Sabouraud.

Resumen

El propósito de este trabajo de investigación fue determinar el efecto antimicótico del aceite esencial de *Origanum vulgare* sobre *Candida albicans*. El estudio fue de diseño experimental, longitudinal, prospectivo. Este análisis se realizó en 11 placas Petri con *Cándida albicans* y con discos embebidos en aceite esencial de orégano en concentraciones al 25%, 50%, 75% y 100% evaluados en 24h, 48h y 72h; además de la medición de los respectivos halos de inhibición en milímetros.

Se encontró que los niveles de eficacia antimicótica de los halos de inhibición de las concentraciones de 25%: (promedio: 7,74mm); 50% (promedio: 14,08mm); 75% (promedio: 21,36mm) y 100%: (promedio: 27,99mm) fueron las mayores medias alcanzadas en 72 horas. Estos resultados fueron los mayores en las horas anteriormente descritas.

El promedio del halo de inhibición de la Nistatina fue el más bajo en todas las horas, excepto a las 48 horas donde se encontró que fue mayor al del *Origanum vulgare* al 25% (12,84mm).

Se concluye que el aceite esencial de orégano presenta un efecto inhibitorio antimicótico significativo sobre *candida albicans*.

Palabras clave: *origanum vulgare*, *candida albicans*, antifúngicos, nistatina.

Abstract

The purpose of this research work was to determine the antifungal effect of *Origanum vulgare* essential oil on *Candida albicans*. The study was of an experimental, longitudinal, prospective design. This analysis was performed in 11 Petri dishes with *Candida albicans* and with discs soaked in oregano essential oil in concentrations of 25%, 50%, 75% and 100% evaluated in 24h, 48h and 72h; addition to the measurement of the respective inhibition halos in millimeters. It was found that the levels of antifungal efficacy of the inhibition halos concentrations of 25%: (average: 7.74mm); 50% (average: 14.08mm); 75% (average: 21.36mm) and 100%: (average: 27.99mm) were the highest averages achieved in 72 hours.

These results were the highest in the hours previously described.

The average inhibition halo of Nystatin was the lowest in all hours, except at 48 hours, where it was found to be greater than that of *Origanum vulgare* at 25% (12.84mm).

It is concluded that oregano essential oil has a significant antifungal inhibitory effect on *Candida albicans*.

Keywords: *origanum vulgare*, *candida albicans*, antifungal, nystatin.

Introducción

El objetivo de esta investigación fue determinar el efecto antimicótico del aceite esencial de *Origanum vulgare* sobre *Candida albicans*. Para lograrlo, se diseñó un estudio cuantitativo, experimental, transversal y prospectivo. En el informe final de tesis se presentan los siguientes capítulos:

CAPÍTULO I: EL PROBLEMA: Se realizó el planteamiento del problema, donde se describió la realidad problemática, además de los problemas y objetivos de la investigación. Además, se elaboró la justificación del estudio, así como las limitaciones. **CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO:** Describe los antecedentes y las bases teóricas del tema de estudio.

CAPÍTULO III: METODOLOGÍA: Se formula la metodología en donde se describe el tipo de estudio, el diseño, variables, muestra, así como la técnica de recolección de datos, la elaboración de ficha de recolección de datos, procedimientos a seguir desde el inicio hasta la ejecución, aplicación de técnicas estadísticas y aspectos éticos.

CAPÍTULO IV: PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN: Se detallan los resultados mediante el análisis descriptivo, posteriormente se realizó la discusión donde se contrastó los resultados encontrados con las investigaciones previas. Por último, **CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES:** Se desarrollaron las conclusiones y recomendaciones.

CAPITULO I. EL PROBLEMA

1.1 . Planteamiento del Problema

El género *Candida* es el que se presenta de manera más frecuente y está íntimamente asociado en afecciones fúngicas en personas enfermas, este microorganismo ingresa a nuestro organismo por contacto con piel, sangre, entre otros (1). Este patógeno, es un huésped común de la cavidad bucal, sin embargo, se convierte en un problema para la salud bucal de la persona ya que puede aparecer como patógeno oportunista cuando la inmunidad de la persona se encuentre por debajo de lo normal, ocasionando afecciones a nivel de toda la cavidad oral involucrando a estructuras vecinas (2). En la actualidad se sabe que las afecciones en la mucosa oral ocasionada por hongos serían constantes en pacientes inmunosuprimidos e incluso en pacientes que estén llevando tratamiento con antibióticos de larga duración (3). Otra problemática que ocurre con la *Candida* es la frecuencia de esta en personas que usan prótesis dental, los cuales tienen un alto riesgo a contaminarse por *Candida albicans*, ya que mantienen la prótesis por mucho tiempo e incluso por tener una mala higiene, llevando a una posterior contaminación de los tejidos adyacentes (4). Por último, la incidencia de la candidiasis incrementa conforme la edad aumenta y se llega a ser adulto mayor en donde se ve el mayor número de casos ya que existen factores de riesgo como xerostomía, uso de prótesis, uso de múltiples fármacos por un tiempo prolongado, entre otros (5).

Por otro lado los medicamentos son vinculados a un modelo de salud industrializado, mientras que las plantas de origen natural-medicinal, siguiendo la tradición, están ligadas a un pensamiento distinto del ser humano por formar parte de la misma naturaleza; del entorno y medio ambiente que lo rodea el cual puede conceder buenos resultados con sustancias naturales manteniendo la relación de la persona con su medio ambiente y recordándonos que la diversidad

biológica también puede aportar en la salud pública (6). Existen plantas que están siendo analizadas para añadirse en el proceso de formulación de fármacos, ya que poseen componentes que al combinarse con fármacos da como resultado una mejor concentración y efectividad, en el área de la salud oral, así tenemos: enjuagatorios orales, geles tópicos y pastas dentales (7).

Actualmente se necesita hacer más investigaciones con este tipo de plantas para innovar sustancias que tengan efectos en el tratamiento ante una patología oral. Por lo expuesto anteriormente, este estudio tendrá como finalidad determinar la efectividad antimicótica del aceite esencial de orégano al 100% de concentración sobre *Candida albicans*; que interviene de manera directa en el crecimiento de este microorganismo, pero aún no existe la suficiente evidencia en relación a la cantidad a ser utilizada, tampoco existe una adecuada evidencia de como poder integrarlo en productos odontológicos que sirvan como tratamiento para afecciones por *Candida Albicans* (8).

Por estas razones se debe analizar y de acuerdo a los resultados utilizar sustancias naturales en base a orégano, el cual ha sido empleado en nuestra cultura desde hace muchos años, principalmente en la prevención y tratamiento de patologías orales, minimizando las reacciones adversas que pueden producir los medicamentos antifúngicos.

1.2 Formulación del Problema

1.2.1 Problema general

- ¿El aceite esencial de Origanum vulgare tiene efecto antimicótico sobre Candida Albicans?

1.2.2 Problemas Específicos

- ¿El aceite esencial de Origanum vulgare al 25 % de concentración tiene efecto antimicótico sobre Candida Albicans?
- ¿El aceite esencial de Origanum vulgare al 50 % de concentración tiene efecto antimicótico sobre Candida Albicans?
- ¿El aceite esencial de Origanum vulgare al 75 % de concentración tiene efecto antimicótico sobre Candida Albicans?
- ¿El aceite esencial de Origanum vulgare al 100 % de concentración tiene efecto antimicótico sobre Candida Albicans?

1.3 Objetivos de la investigación

1.3.1 Objetivo General

- Determinar el efecto antimicótico del aceite esencial de Origanum vulgare sobre Candida albicans.

1.3.2 Objetivos Específicos

- Determinar el efecto antimicótico del aceite esencial de Origanum vulgare al 25% de concentración sobre Candida albicans.
- Determinar el efecto antimicótico del aceite esencial de Origanum vulgare al 50% de concentración sobre Candida albicans.

- Determinar el efecto antimicótico del aceite esencial de Origanum vulgare al 75% de concentración sobre Candida albicans.
- Determinar el efecto antimicótico del aceite esencial de Origanum vulgare al 100% de concentración sobre Candida albicans.

1.4 Justificación de la investigación

1.4.1 Teórica

Diversos autores han indicado el impacto que tienen los estudios con aceites esenciales de plantas; dándose así estudios del orégano, comprobándose que el aceite esencial tiene componentes que ayudan y tienen un efecto de inhibición al crecimiento de microorganismos.

1.4.2 Metodológica

El estudio está sustentado en antecedentes y se cuenta con una estructura calificada, así como una adecuada ficha de recolección de datos y todos los elementos para poder realizar la investigación.

1.4.3. Práctica

El presente estudio tiene vital importancia ya que será de gran aporte a la comunidad científica determinar el potencial antifúngico que tiene este tipo de plantas para ser posteriormente alternativa en el tratamiento de micosis orales, la relevancia también está dada por el estudio de las propiedades en plantas aplicados en el ámbito de la salud, siendo estas propiedades aun no estudiadas a profundidad, por lo tanto hay una prioridad en realizar investigaciones que tienen que ver directamente con las características y beneficios de los distintos recursos naturales. Por tal motivo, es importante el análisis de estos elementos naturales para desarrollar sustancias que mantengan un buen estado de salud oral frente a estos patógenos, haciendo diversos ensayos, pero bajo un sustento de carácter científico. De igual manera estos resultados ayudarán a otros

investigadores a que sigan realizando más ensayos en cuanto a las propiedades de ciertas plantas y quedará como antecedente para que sigan estudiando sus propiedades con mayor profundidad.

1.5 Limitaciones de la investigación

1.5.1 Temporal

Esta investigación tuvo algunas limitaciones por la coyuntura que estamos pasando mundialmente por el Covid19.

1.5.2 Espacio

Hubo dificultades para conseguir laboratorio, ya que estos debían de implementar un protocolo de ingreso para la bioseguridad de todas las personas; sin embargo, este trabajo de investigación se realizó en el laboratorio Scientific Quality, ubicado en el distrito de San Miguel.

También se presentaron dificultades para realizar el arrastre a vapor del aceite de orégano, ya que los laboratorios de bioquímica no están funcionando; así que se tuvo que comprar el aceite de orégano y este cuenta con su registro sanitario para la presente investigación.

1.5.3 Recursos

Esta investigación se asumió con recursos propios por parte del investigador, aunque al inicio se dificultó encontrar laboratorio microbiológico por toda la coyuntura que mundialmente se está pasando; sin embargo, se llegó a buenos resultados.

CAPITULO II: MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

Valverde, (2017) en su investigación tuvo como objetivo “Identificar la efectividad antimicótica de los aceites esenciales de Orégano de las provincias de Chimborazo y Santa Elena al 100% de concentración sobre *Candida albicans*”. El estudio fue de tipo experimental y longitudinal, se obtuvo el aceite esencial de la planta de orégano al 100% de concentración por medio del método con vapor de agua y se tuvo como sustancia control a la nistatina. La inoculación de la levadura se realizó con 0,5 en la escala McFarland, para luego ser insertadas en recipientes estériles, para añadirse 50 ml de agua destilada, además 0,3 y 0.5ml de aceite esencial. Para evaluar la efectividad de dicho aceite sobre *Candida albicans* se procedió a realizar el conteo de las unidades formadoras de colonias (UFC) con el método de la cámara de Neubauer, divididos en cuatro tiempos. Teniendo como resultado que los dos aceites esenciales de ambas provincias mostraron diferencias significativas, ya que el nivel de significancia fue de ($p=0.000$) siendo inferior a 0,05; sobre las levaduras en comparación con nistatina siendo las medias del grupo control de nistatina 5.248, del grupo experimental, para aceite esencial orégano de Chimborazo 3.414 y aceite esencial orégano de Santa elena 3.751. Se concluye que los aceites esenciales tuvieron un efecto antifúngico frente a *Candida albicans* a comparación de la nistatina (7).

Colpa, (2016) en su investigación tuvo como objetivo “Determinar el efecto inhibitor del aceite esencial de *Origanum vulgare* y *Mentha piperita* en comparación a la nistatina frente a cepas de *Candida albicans*”. La investigación fue experimental, explicativo y longitudinal, se trabajaron 80 placas Petri con un tipo de Agar Sabouraud procediendo a incorporar las colonias de *Candida albicans*; posteriormente se procedió a trabajar en dos partes donde se integraban 40 placas con

Origanum vulgare y 40 con Mentha piperita, colocándose en las concentraciones indicadas (25%, 50%, 75% y 100), además de tener un control negativo (agua destilada) y un control de tipo positivo como la nistatina, teniendo seis muestras por placa; estas estuvieron a una temperatura de 37°C para posteriormente medir los halos de inhibición en una escala de tiempo de 24 y 48 horas. Para la comparación se utilizó la prueba estadística de análisis comparativo de medias, dando los siguientes resultados, el halo de inhibición para el origanum vulgare fue de 45.73mm y 46.35mm a las 24 y 48 horas respectivamente, teniendo superioridad a nivel de la Nistatina la cual marco un diámetro de 17.83mm y 18.20mm respectivamente; y con la Mentha piperita de 18.85mm y 19.88mm. Para comparar los tres grupos se procedió a trabajar con el análisis estadístico de U de Mann de Whitney teniendo diferencias estadísticamente significativas en el total de comparaciones de las diferentes concentraciones ($p=0.000$) a las 24 y 48 horas, excepto en el grupo de Menta piperita al 100% de concentración con el grupo de Nistatina donde el ($p=0.24$), teniendo diferencias estadísticamente significativas en su mayoría de concentraciones. Como conclusión el efecto inhibitorio del Origanum vulgare (Orégano) fue superior al de la Nistatina (control) en absolutamente todas las concentraciones en las distintas horas, ya que su efecto inhibitorio mostraba superioridad conforme se elevaba la concentración. Por otro lado, la Menta piperita (Menta) no obtuvo muy buenos resultados y se demostró que tienen un menor efecto inhibitorio que la Nistatina, a pesar de que su concentración iba elevándose (8).

García, (2018) en su investigación tuvo como objetivo “Comparar el efecto antifúngico de cuatro concentraciones de extracto etanólico de Origanum vulgare sobre cepas de Candida albicans ATCC 10231”. El estudio fue de tipo longitudinal y experimental, se evaluó la actividad antifúngica y para ello se usó el método Kirby-Bauer, procediendo a la activación de la cepa y

al preparado del inóculo con un nivel de turbidez de 0,5 en la escala McFarland, el proceso de sembrado se hizo en 10 cajas Petri usando un tipo Dextrosa Sabouraud con una temperatura de 37°C, posteriormente se introdujo los discos embebidos de las distintas concentraciones del extracto (25%,50%,75%,100%), además de la nistatina como sustancia control; para el análisis de diferencias de medias las diversas concentraciones resultaron con un promedio de halo de inhibición 9.9mm, 17.9mm, 20.7mm, 22.9mm de acuerdo al orden ascendente de concentración. Se procedió a distribuir los valores en tablas para comparar los halos de inhibición usando la prueba Shapiro Wilk. Como conclusión se encontró que el aceite etanólico de *origanum vulgare* al 100% obtuvo el mayor efecto antimicótico frente a *Candida* (9).

Villavicencio, (2017) en su investigación tuvo como objetivo “Evaluar el efecto antimicótico in vitro del aceite esencial del orégano (*Origanum vulgare*) en cepas de *Candida albicans* procedentes de la Estomatitis Sub Protésica (ESP); como alternativo farmacológico para la prevención y tratamiento de la ESP”. El estudio fue de tipo experimental, explicativo y longitudinal, en primer lugar, se procedió a recolectar los diferentes tipos de orégano: “*Origanum x intercedens* (chinito), *Origanum x majoricum* (nigra), *Origanum vulgare* L (Jauja) y *Origanum vulgare* L (Tacna). Se utilizó el cultivo agar a través del método de difusión comparándose con miconazol (gel oral 20 mg/g) y clorhexidina (0,12%). Los aceites esenciales de orégano de los cuatro subtipos evaluados dieron como resultado un efecto antifúngico en sus distintas concentraciones, y mostraron diferencias significativas frente al miconazol y clorhexidina, se muestra que existen diferencias entre las diversas concentraciones del *Origanum x vulgare* L (Tacna) frente a clorhexidina y miconazol en cepa de *Candida albicans*, mediante la prueba H de Kruskal-Wallis se determina que existe diferencia estadísticamente significativa ($p=0.001$, $\chi^2=23.31$), con referencia a *Origanum x intercedens* (chinito) frente a

clorhexidina y miconazol en cepa de *Candida albicans*, se determina que las diferencias son estadísticamente significativas ($p=0.001$, $\chi^2=36.36$), con referencia al *Origanum x majoricum* (Nigra) frente a clorhexidina y miconazol en cepa de *Candida albicans*, también se determina que existe diferencia estadísticamente significativa ($p=0.001$, $\chi^2=36.36$)”, referente al *Origanum x vulgare* L (Jauja) comparado con clorhexidina y miconazol, se determina que existe diferencia significativas ($p=0.001$, $\chi^2=38.15$)”. Como conclusión se determina que el aceite esencial de *Origanum vulgare* tiene buenos resultados y es una buena opción farmacológica para tratar la Estomatitis Sub Protésica, sin embargo, los efectos del miconazol tienen mucho mayor efecto sobre *Candida albicans* (10).

Durando et al., (2020) en su investigación tuvo como objetivo “Comparar el efecto in vitro del aceite esencial de *Eucalyptus globulus* con el aceite esencial de *Origanum vulgare* sobre el crecimiento de *Cándida albicans* aislada de paciente con candidiasis vulvovaginal. El estudio fue experimental y según el número de mediciones fue longitudinal, se obtuvo muestras de *Candida albicans* tomada de personas que presentaron candidiasis vulvovaginal. La actividad antifúngica se evaluó mediante la técnica Kirby y Bauer; la concentración inhibitoria mínima (CIM) y la concentración mínima fungicida (CMF) por medio del conteo de las unidades formadoras de colonias (UFC). Encontrándose como resultado que la diferencia de las medias entre los diámetros de los halos de inhibición de las concentraciones al 25%, 50%, 75% y 100% del aceite esencial de *Eucalyptus globulus* y del aceite esencial de *Origanum vulgare* es significativa, ya que ($p =.0000$), con lo cual se demuestra que el aceite de *Eucalyptus* presentó menor efecto inhibitorio que el aceite de *Origanum*. También se encontró que la Concentración mínima inhibitoria del *Eucalyptus globulus* corresponde a un 50% y del *Origanum vulgare* fue de 25%, donde además se vio ausencia de turbidez. Además, se encontró que solo el aceite

esencial de *Origanum vulgare* llegó a tener una concentración mínima fungicida al llegar a un 75% presentó a partir de la concentración 75% (UFC = 0)". Como conclusión el aceite esencial de *Origanum vulgare* presentó mejores efectos inhibitorios que el aceite esencial de *Eucalyptus globulus* frente a *Candida albicans* tomada de personas con candidiasis vulvovaginal en condiciones *in vitro* (11).

Quintanilla, (2016) en su investigación tuvo como objetivo "Determinar el efecto antibacteriano *in vitro* del extracto de aceite de orégano, carvacrol, sobre cepas de *Candida albicans*". El estudio fue de diseño experimental, corte longitudinal y prospectivo. Se procedió a la preparación del extracto de aceite de orégano, carvacrol, al 0,1 %, usando la técnica de Kirby Bauer y el estudio de la concentración mínima inhibitoria (CMI). Para el estudio se evaluó el extracto de aceite de orégano en base a cuatro distintas concentraciones; además se tomó al fluconazol como sustancia control, para posteriormente realizar diez muestras en cada caso. Según los resultados se encontró que existe diferencia significativa entre la actividad antimicótica de las distintas concentraciones sobre la presencia de *Candida albicans* ($P < 0.05$) siendo sensible comparando los halos de inhibición mediante la escala de Duraffourd, para el aceite de carvacrol al 25 % se obtuvo una media de 8.43mm, para la concentración del 50% se obtuvo una media de 11.84mm, para la concentración del 75% una media de 13.67mm y para la concentración del 100% una media de 21.91mm. La CMI para la acción antifúngica fue de 100%, (1000 mg/ml). Como conclusión se encontró que el carvacrol, como extracto de aceite de orégano, sí tiene buen efecto inhibitorio *in vitro* contra *Candida albicans*, siendo su mayor efecto al 100% (12).

López, et al., (2018) "Esta investigación tuvo como objetivo evaluar el efecto inhibitorio de tres emulsiones distintas con aceite esencial de orégano mexicano, *Lippia graveolens*, contra el

patógeno oportunista *Candida albicans*. El estudio fue de tipo experimental, longitudinal. Se hizo el estudio del efecto antifúngico de tres emulsiones distintas mediante la técnica de discos. La preparación de las emulsiones consistió en una fase oleosa al 10% formada por aceite de *Lippia graveolens* y aceite mineral (triglicérido caprílico) y se manejaron de manera diferente de acuerdo a cada emulsión. Teniendo como resultado que todas las muestras tuvieron efecto inhibitorio sobre *Candida albicans*, siendo la emulsión con la matriz de goma arábica la que tuvo mayor halo de inhibición con una medida de 11.75mm, seguida por la matriz de polisorbato 80 que obtuvo una media de 8mm y posteriormente la matriz de lectina hidroxilada con una media de 7 mm, asumiendo que existe una diferencia significativa ($p=0.000$) entre el aceite con matriz de goma arábica en función al halo de inhibición para *Candida albicans*". Como conclusión las emulsiones de aceite de orégano mexicano *Lippia graveolens*, con goma arábica, son una buena opción contra *Candida albicans* presentando un buen efecto inhibitorio (13).

Alca, (2019) en su investigación tuvo como objetivo "Evaluar la actividad antifúngica in vitro individual y su asociación de los aceites esenciales *Origanum vulgare* (orégano) y *Cinnamomum zeylanicum* (canela) a diferentes concentraciones sobre *Candida albicans*". El tipo de investigación fue experimental, explicativa, longitudinal. La investigación se constituyó de 135 placas Petri inoculadas de cepas de *Candida albicans*. Se asume que existe diferencia significativas ($p=0,000$) entre las concentraciones de ambos aceites; según la escala de DURAFFOURD en el estudio se encontró una efectividad sensible en el grupo control positivo con una media de 9 a 14mm, por otro lado se demostró que el aceite esencial *Origanum vulgare* al 50% su efecto antifúngico es sensible (+) con una media de 9 a 14 mm , al 75% su efecto antifúngico es muy sensible (++) con una media de 15 a 20 mm, al 100% su efecto antifúngico altamente sensible (+++) con una media mayor a 20mm sobre *Candida albicans*. Para el aceite

esencial *Cinnamomum zeylanicum* (canela) al 20% y 50% su efecto antifúngico es sensible (+) con una media de 9 a 14 mm, al 75% y 100% su efecto antifúngico altamente sensible (+++) con una media mayor a 20 mm sobre *Candida albicans*. Con respecto a la asociación de los aceites esenciales *Origanum vulgare* (orégano) y *Cinnamomum zeylanicum* (canela) al 50%, 75% y 100% su efecto antifúngico fue altamente sensible (+++) sobre *Candida albicans*. Como conclusión se tuvo un efecto antimicótico de ambos aceites de manera individual, así como en asociación, sobre todo en los porcentajes de 75% y 100% respectivamente (14).

2.2. Bases teóricas

2.2.1 Candida albicans

Es un hongo el cual pertenece al grupo ascomicetos, puede encontrarse en diversas estructuras del cuerpo, teniendo predilección por el sistema gastrointestinal, vagina, piel y boca, ubicándose en la superficie y de manera interna a nivel de mucosas. Dentro del género *Candida*, se encuentra con mayor frecuencia en cavidad bucal con un 75% seguido de *C. tropicalis* (8%) y *C. krusei* (5%) (15).

2.2.1.1 Características

El género *Cándida* tiene como componentes aproximadamente a 150 tipos, los cuales presentan en su totalidad una forma asexual. Dentro de su clasificación tenemos a las levaduras, estas en su mayoría presentan estructura unicelular (16). Se ha descrito que el género *Candida* tiene entre once y doce tipos que pueden adaptarse a una temperatura de 37°C (temperatura oral) teniendo potencial patógeno para el paciente. Este tipo es el que se presenta con mayor significancia a nivel de cavidad bucal como responsable de las afecciones micóticas además de la estomatitis sub protésica (17).

La *Candida albicans* es un tipo de germen comensal y su fuente de alimento son los carbohidratos, elementos fermentables, entre otros; actúa a nivel de mucosa, principalmente bucal, tracto digestivo y partes genitales. Este microorganismo es agente oportunista, quiere decir que afecta a la persona cuando su sistema inmunológico está siendo comprometido y las condiciones se hacen a favor de ella. Si los niveles de *cándida* aumentan significativamente puede ocasionar serios problemas en el organismo de la persona (18)(19).

El nivel de afectación de esta afección de origen fúngico, se determina por la capacidad que tiene el sistema inmune de la persona para poder eliminar el agente causal, también interviene el factor de virulencia y el medio externo condicionado por el nivel salival, pH, entre otros factores en el que intervienen la cavidad bucal que actúa como hospedera y el agente infeccioso (20).

2.2.1.2 Patogenia

La Candida contiene múltiples elementos en su superficie externa que tienen como objetivo la adherencia hacia el huésped elegido, uno de los principales elementos es la integrina humana CR 3, una proteína que se une con el azúcar de las células epiteliales y diversas proteínas agregadas con manosa que se adhieren a diversas moléculas (14). Finalmente, la transición es la etapa en donde el hongo adquiere mayor virulencia ya que se da el paso de levadura a hifas. Por consiguiente, queda establecido que la causa más común de candidiasis es porque hay afección de Candida albicans, sin embargo, se ha identificado otras especies que también pueden ocasionar esta patología en la persona (21)(22).

2.2.1.3 Clasificación taxonómica

La clasificación taxonómica está estructurada de la siguiente manera (23).

“Reino: Hongo”

“División: Deuteromycota”

“Clase: Blastomycetes”

“Familia: Cryptococcaceae”

“Género: Candida”

“Especie: Albicans”

2.2.1.3 Candida Albicans en Odontología

La Candida albicans tiene bastante relación en la cavidad oral y se presenta como candidiasis oral, siendo una afección de tipo micótica, el motivo más frecuente para que la Candida albicans se ubique en mucosa bucal va a depender del nivel de respuesta del sistema inmunológico del paciente, como también del nivel de retención del hongo en su respectivo mecanismo de crecimiento (24).

En la candidiasis oral, la sintomatología cambia de acuerdo a la lesión; teniendo a la pseudomembranosa como la más frecuente. Este tipo se manifiesta clínicamente como una lesión adherida, de tono blanquecino, con una consistencia blanda, abarcando grandes superficies las cuales pueden ser retiradas con algún elemento simple de diagnóstico, produciendo muchas veces una superficie de tono rojizo con cierto sangrado (25).

Esta afección está vinculada directamente al sistema inmune en la persona. El proceso de infección es agudo, sin embargo, si no se suministra un tratamiento adecuado puede extender su duración de manera permanente convirtiéndose en crónica, manifestándose en mucosa oral, siendo el órgano afectado más frecuente la lengua, luego el paladar y por último el carrillo (26)(27).

Existen factores que pueden confluir para que el hongo se instale de manera más rápida y eficaz, los cuales son el mal uso de prótesis dentales, xerostomía, los tratamientos con antibioticoterapia, pacientes inmunosupresores, personas que estén bajo tratamiento neoplásico, ello implica la supervivencia de los pacientes con inmunodeficiencias teniendo como grupo de

personas los infantes y adultos mayores ; esta afección es bastante frecuente en personas que presentan el virus de la inmunodeficiencia adquirida (VIH) o los que están llevando terapia de largo plazo en diagnósticos de cáncer (14)(28).

2.2.1.4 Tratamiento

El tratamiento de la candidiasis en mucosas no es complicado en pacientes en los que el sistema inmunológico conserva niveles adecuados y los antifúngicos tópicos resultan eficaces; lo contrario sucede en estados de inmunodepresión, donde existen altas tasas de recurrencias o recidivas de lesiones, que requieren terapia intensiva sistémica y en los que, aun con los buenos resultados mediante aplicación de antimicóticos azólicos, existen diversas formas clínicas resistentes al tratamiento con ketoconazol, fluconazol e incluso anfotericina B, todos estos antifúngicos conocidos. Esta fármaco-resistencia, la toxicidad y las interacciones farmacológicas de los antifúngicos comunes fomenta la búsqueda de alternativas terapéuticas en donde los productos naturales, los vegetales entre los más estudiados, son los más indicados para cumplir este objetivo (29).

2.2.2 Orégano

El orégano es un tipo herbácea, rizomatoso, con tallos firmes, teniendo diversas ramificaciones. Tiene una altitud que oscila entre 0,30 y 0,70 m. Sus pétalos tienen una medición de 1 a 2 cm de diámetro, de forma oval, con un tono verdoso, sus flores tienen un color blanquecino o rosado ligero, divididas en ramas. Por otro lado, sus raíces resistentes hacen que esta planta pueda controlar los fenómenos de erosión a nivel del suelo por lo que se usa para conservar algunos suelos (30).

Sus hojas opuestas tienen un color verdoso manteniendo un aspecto veloso en la parte inferior y siendo lisa en la parte superior. Sus flores son pequeñas, teniendo un tallo ramificado y semillas pequeñas (8).

Esta planta contiene diminutos tipos de glándula las cuales se encargan de otorgar el aroma característico, teniendo el tallo algunos elementos orgánicos y siendo las hojas la parte más importante de esta planta (15).

2.2.2.1 Aceites esenciales

Actualmente se tienen más de 3000 aceites esenciales estudiados, y solo un 10% se encuentra incluido en la industria a nivel comercial y en salud. Los elementos de estos aceites son metabolitos de las diversas plantas, los cuales son separados mediante un proceso químico de la hoja natural. Como tradición estos aceites han tenido un uso clásico como fungicidas, antiparasitarios, también han sido estudiados sus efectos analgésicos, antiinflamatorios y espasmolíticos, entre otros. Pero la naturaleza lipofílica de estos aceites hace difícil su uso como agentes antimicrobianos. La nanotecnología interviene en esta propiedad, encapsulando a estos aceites permitiendo estabilizar la liberación de estos elementos, mejorando su funcionamiento en la persona (31)

La mayoría de los aceites esenciales son antisépticos, teniendo especificidades según cada tipo, pudiendo ser analgésicos, fungicidas, diuréticos o expectorantes. En cuanto a los elementos que contienen, estos le dan ciertas características las cuales son aroma, una sensación relajante, o estimulante (8). El orégano, tiene efecto inhibitorio sobre bacterias Gram positivas y Gram negativos, así como aerobios y anaerobios en diferentes proporciones. Por lo tanto, estos efectos

son de vital importancia para la industria alimentaria ya que estabilizan los alimentos otorgándole inocuidad, generando un beneficio en el consumo humano (17).

Este aceite tiene efecto directo en el organismo de la persona, teniendo actividad antifúngica, antibacteriana, antiparasitaria, antiséptica, además se le agrega una propiedad antimutagénica y anticancerígena, teniéndolo como alternativa en el tratamiento con los pacientes que presenten neoplasias (32).

2.2.2.3 Propiedades del aceite esencial de orégano

El aceite de *Origanum vulgare* tiene propiedades antibacteriales, antifúngicas, antiespasmódicas, antisépticas, y antioxidantes, teniendo como elementos de vital importancia al carvacrol y timol, así como también un 12.19 % de Terpeneol y 6.86 % de Pcimeno. Por lo tanto, a nivel industrial el aceite que tiene en su contenido mayor proporción de carvacrol y mayor porcentaje de timol en su concentración. (19) Este aceite tiene un efecto en bacterias de tipo Gram +, como *Staphylococcus aureus* y *Bacillus cereus*, además sobre bacterias Gram -, como por ejemplo *Escherichia coli*, *Citrobacter spp.* y *Salmonella typhi*. El timol tiene mayor efecto que el carvacrol contra bacterias Gram-negativas. Por otro lado, como parte de la estructura de esta planta también se integran algunos flavonoides como por ejemplo “la apigenina y la luteolina, alcoholes alifáticos, compuestos terpénicos y derivados del fenilpropano. Además, en el orégano (*Origanum vulgare*) se han hallado ciertos ácidos como, por ejemplo: coumérico, ferúlico, caféico, p-hidroxibenzóico y vainillínico” (33).

2.2.2.4 Mecanismo de Acción del Aceite esencial de orégano

Una característica importante de poder determinar el efecto del aceite esencial de orégano sobre el microorganismo es evaluar su efecto en él, analizando los efectos que produce en las partes del patógeno, para poder así mejorar sus características asociando lo natural con lo industrial. Debido a su naturaleza lipofílica, tienen una alta adhesión por las membranas celulares, en donde sus elementos interactúan con los diversos elementos dando como resultado cambios en el transporte normal de iones a través de la membrana, y por último disminuyendo la actividad de los gérmenes y comprometiendo su estructura haciéndolo vulnerable. Teniendo una variedad de componentes en la membrana celular, el aceite esencial tiene mayor efecto en las bacterias Gram-positivas en comparación con las Gram-negativas (34). El aceite esencial de *Origanum vulgare* tiene actividad en los múltiples radicales libres y esta característica es atribuible a las propiedades del carvacrol y timol. Existe evidencia de distintos autores los cuales coinciden en otorgar características antioxidantes en aceites de diferentes tipos de plantas de orégano (“*Origanum vulgare*, *Origanum compactum*, *Origanum Majorana*”) (35)(36).

2.3. Formulación de hipótesis

2.3.1 Hipótesis General

Hi: El aceite esencial de *Origanum vulgare* presenta efecto inhibitorio sobre el crecimiento de *Candida albicans*.

Ho: El aceite esencial de *Origanum vulgare* no presenta efecto inhibitorio sobre el crecimiento de *Candida albicans*.

2.3.2 Hipótesis Especificas

Hi: El aceite esencial de *origanum vulgare* al 25% presenta efecto inhibitorio sobre el crecimiento de *Candida albicans*.

Ho: El aceite esencial de *origanum vulgare* al 25% no presenta efecto inhibitorio sobre el crecimiento de *Candida albicans*.

Hi: El aceite esencial de *origanum vulgare* al 50% presenta efecto inhibitorio sobre el crecimiento de *Candida albicans*.

Ho: El aceite esencial de *origanum vulgare* al 50% no presenta efecto inhibitorio sobre el crecimiento de *Candida albicans*.

Hi: El aceite esencial de *origanum vulgare* al 75% presenta efecto inhibitorio sobre el crecimiento de *Candida albicans*.

Ho: El aceite esencial de *origanum vulgare* al 75% no presenta efecto inhibitorio sobre el crecimiento de *Candida albicans*.

Hi: El aceite esencial de *origanum vulgare* al 100% presenta efecto inhibitorio sobre el crecimiento de *Candida albicans*.

Ho: El aceite esencial de *origanum vulgare* al 100% no presenta efecto inhibitorio sobre el crecimiento de *Candida albicans*.

CAPITULO III: METODOLOGÍA

3. METODOLOGÍA

3.1 Método de la investigación

Analítico, porque plantea y pone a prueba las hipótesis y los datos adquiridos en el estudio (36).

3.2. Enfoque de la investigación

Cuantitativo, ya que vamos a utilizar un análisis estadístico para poder medir la variable y así poder cuantificar los resultados (37)

3.3. Tipo de investigación

Aplicada ya que tuvo como objetivo resolver un problema o planteamiento específico (36).

3.4. Diseño de la investigación

Experimental: Ya que el investigador interviene de manera directa porque manipula la variable, para posteriormente analizar los resultados esperados (36).

Longitudinal: Porque se recolectaron los datos en diferentes momentos (cantidad de horas) determinado por el investigador (38).

Prospectivo: Porque el análisis se obtuvo de acuerdo a la ocurrencia de los hechos según sucedieron los hechos en tiempo presente (36,39).

3.5. Población, muestra y muestreo

3.5.1 Población

La población fueron las placas de agar con cepas de *Candida albicans*.

3.5.2. Muestra y muestreo

La muestra fue determinada por la fórmula para tamaño muestral de comparación de medias para hallar el número de placas.

$$n = \frac{2(1.96+0.90)^2 \times 200.00}{(17.00)^2}$$

$$n = 11.32$$

En donde:

- “Za= Valor Z correspondiente al riesgo deseado”.
- “Zb= Valor Z correspondiente al riesgo deseado”.
- “S2 = Varianza de la variable cuantitativa que tiene el grupo control o de referencia”.
- “d = Valor mínimo de la diferencia que se desea detectar”.

3.5.3 Tipo de Muestreo

El tipo de muestreo fue el tipo no probabilístico por conveniencia, ya que se trabajó con un número mínimo de placas a analizar, dependiendo de otros factores como la cepa a trabajar y la disponibilidad de materiales del laboratorio.

3.5.4 Criterios de Inclusión

Placas de *Candida albicans* ATCC 10231.

3.5.5 Criterios de Exclusión

Placas con halos de inhibición no claro.

Placas de *Candida albicans* con evidencia de contaminación .

3.6. Variables y Operacionalización

Variable	Definición Operacional	Dimensiones	Indicador	Escala de medición	Escala Valorativa
Efecto antifúngico	Es la capacidad que tiene un elemento para evitar la reproducción fúngica, estará determinado luego de medir los halos de inhibición.	-----	Medición de diámetros de los halos de inhibición	Razón	Milímetros
Aceite Esencial	Aceite esencial concentrado que es obtenido a partir de la destilación del orégano.	-----	-Aceite esencial de Origanum vulgare al 25% -Aceite esencial de origanum vulgare al 50% -Aceite esencial de origanum vulgare al 75% -Aceite esencial de	Nominal	Presencia Ausencia

			origanum vulgare al 100%”		
Nistatina	Fármaco antifúngico usado como grupo control en la investigación	-----	Sustancia aplicada en el agar	Nominal	Presencia Ausencia
Tiempo	Cantidad de horas transcurridas para la evaluación	-----	Reloj	Nominal	A las 24 horas. A las 48 horas. A las 72 horas.

Variable 1: Efecto Antifúngico

Definición Operacional: Es la capacidad que tiene un elemento para evitar la reproducción fúngica, estará determinado luego de medir los halos de inhibición (13).

Variable 2: Aceite Esencial

Definición Operacional: Aceite esencial concentrado que es obtenido a partir de la destilación del orégano y será presentado en las siguientes concentraciones 25%, 50%.75% y 100% (13).

Variable control: Nistatina

Definición Operacional: Fármaco macrólido poliénico antifúngico usado para el tratamiento de afecciones micóticas en el organismo (8).

3.7. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

3.7.1 Técnica

La técnica utilizada en el siguiente estudio fue la observación y el análisis correspondiente a las muestras.

3.7.2 Descripción de instrumentos

La presente investigación no presentó un instrumento propiamente dicho ya que corresponde a observar los resultados en un estudio in vitro, pero si presento una ficha de recolección para trasladar las mediciones de los halos de inhibición.

Para extraer la muestra de la planta de orégano se tomaron racimos que estén a comienzos de su floración.

Las hojas de la muestra vegetales se desecaron en un ambiente seco a una temperatura ambiente (21°C), con una presión de 0.72 atmósfera, con la finalidad de tener la muestra adecuada en contenedores hechos de papel.

El proceso para obtener el aceite esencial se dio con la recolección de 10 kg de hojas secas, que fueron procesadas en destilación por la técnica de arrastre en vapor de agua. Posteriormente se deshidrato las impurezas de agua en el aceite esencial con Na₂SO₄, para su filtración, teniendo

como obtención 1.80% v/p. El aceite obtenido fue almacenado en vidrio hermético completamente cerrado bajo un nivel de temperatura a 4°C.

Análisis Microbiológico

Cepas fúngicas (*Candida albicans*) para el estudio:

Se trabajo con “la cepa estándar ATCC, (American Type Culture Collection) de *Candida albicans*, que tiene relación directa en la candidiasis oral: *Candida albicans* ATCC 10231”.

Se tuvo el siguiente esquema para el procedimiento del estudio mediante las siguientes etapas:

Reconstitución de las cepas estándar *Cándida albicans*

Se realizó la activación de la cepa ATCC 10231 de *Candida albicans* en caldo BHI y fue incubado por 24 horas a 37°C, posteriormente, se estirió por agotamiento a placas con Agar Sabouraud para obtener colonias aisladas.

Preparación del inóculo de *Candida albicans*

“El método que se aplicó para el análisis de la actividad antifúngica fue el método por difusión en Agar, empleando discos antibiograma, los cuales estuvieron impregnados con las siguientes sustancias: Aceite esencial de *Origanum vulgare* (Orégano) al 25%,50%,75%, 100% y como sustancia control se utilizó el antifúngico nistatina. La preparación de las diluciones para el aceite esencial de orégano fue realizada con agua destilada estéril. Para el control nistatina, se tomó 15uL del antifúngico”.

Inoculación de las placas

“Se preparó un litro de agar Sabouraud según las instrucciones del fabricante y se autoclavó durante 15 minutos a 121°C. Luego, se procedió a atemperar en baño maría a 45°C. Posterior a eso se colocó, en esterilidad, 100ml de Clorhidrato de oxitetraciclina al 0.1%. inmediatamente, en esterilidad, se depositó agar en todas placas Petri a emplear en el ensayo. Se dejó solidificar por 15 minutos las placas con dicho medio de cultivo para posteriormente ser utilizada en el ensayo antibiograma”.

Colocación de los discos

Se procedió a la colocación de los discos antibiograma, depositando, con pinza estéril, un disco antibiograma en las 55 placas de agar Sabouraud inoculadas con *Candida albicans*. Luego se procedió a trabajar con los grupos 11 placas ya determinados en los rótulos. Se depositó con micropipeta, en cada disco antibiograma, 15uL de aceite esencial de *Origanum vulgare* en la concentración que indicó el rotulo de las placas. Las soluciones en tubos fueron homogenizadas previamente con Vórtex. Por otro lado, se inoculó 15ul del antifúngico nistatina a cada disco antibiograma del grupo control. Siguiendo con el procedimiento se voltearon las placas y se colocaron en la incubadora a una temperatura de 37°C por un tiempo determinado de 24 horas.

El desarrollo de todo el procedimiento microbiológico del ensayo se realizó dentro de un área de 10 centímetros de radio alrededor de la llama del mechero.

Toma de datos

Después de 24 horas de incubación, las placas fueron examinadas y se procedió al análisis de los diámetros según los halos de inhibición frente a *Candida albicans*, los cuales fueron medidos

con una Regla de Vernier, el cual brindó el diámetro de halos (en milímetros). Luego de la lectura, se volvieron a incubar todas las placas, puesto que, a las 48 y 72 horas, se realizó nuevamente las lecturas por cada tiempo de incubación, debido a que el objetivo del estudio fue obtener resultados de los halos de inhibición de las concentraciones del aceite esencial y el control nistatina en los tres de incubación señalados.

3.8. Plan de procesamiento y análisis

Los datos fueron incorporados a una plantilla virtual en Microsoft Excel para ser ordenados y clasificados de acuerdo a las mediciones y horas establecidas de evaluación.

Posteriormente fueron incorporados al programa SPSS Statistics 24 para ser procesados y presentados mediante tablas y gráficos, para realizar las mediciones se utilizó las pruebas de análisis de medias, con su respectiva desviación estándar. Respecto al análisis para las comparaciones de los grupos experimentales y control (nistatina) en las diferentes concentraciones se utilizó la prueba Anova, con una significancia estadística de $p < 0.05$.

3.9. Aspectos éticos

Esta investigación fue realizada de manera in vitro, por lo tanto, se respetaron los resultados, los cuales se dieron de una manera objetiva e imparcial, se respetaron los medios de eliminación del material contaminado aplicando las normas de manejo de desechos biológicos. (40)(41)

CAPÍTULO IV: PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

4.1. Resultados

4.1.1. Análisis descriptivo de los resultados

Tabla 1. Halos de inhibición del *Origanum vulgare* frente a *Candida albicans* ATCC 10231 en milímetros (mm) a las 24 horas

Nº Replica en placa Petri	Halo de inhibición del <i>Origanum vulgare</i> frente <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 en milímetros (mm) a las 24 horas en agar Sabouraud				
	25%	50%	75%	100%	Nistatina
1	6,7	13,5	18,8	23,1	13
2	7,3	14,7	20,6	25,5	12,5
3	8,6	12,9	19,0	26,1	13,6
4	6,9	13,1	22,1	28,3	12,1
5	7,8	14,8	19,6	26,9	10,8
6	6,5	13,9	18,5	27,2	12,6
7	7,1	12,4	23,1	33,1	11,9
8	7,8	14,1	22,7	26,7	10,3
9	8,2	13,3	20,9	28,5	13,4
10	6,4	12,8	21,5	27,7	12,1
11	8,1	13,9	22,3	29,3	13,7

Tabla 2: Comparación de estadísticos descriptivos de las mediciones de halo de inhibición en réplicas de *Origanum vulgare* frente a *Candida albicans* ATCC 10231 en milímetros a las 24 horas

Estadísticos descriptivos									
	N	Rango	Mínimo	Máximo	Suma	Media	Desv. Error	Desv. Desviación	Varianza
	Estadístico	Estadístico							
25 %	11	2,20	6,40	8,60	81,40	7,4000	,22442	,74431	,554
50%	11	2,40	12,40	14,80	149,40	13,5818	,23348	,77436	,600
75%	11	4,60	18,50	23,10	229,10	20,8273	,49856	1,65354	2,734
100%	11	10,00	23,10	33,10	302,40	27,4909	,75492	2,50378	6,269
Nistatina	11	3,40	10,30	13,70	136,00	12,3636	,32926	1,09204	1,193
N válido (por lista)	11								

Según la **tabla 2**: En esta tabla se puede observar que, a las 24 horas de incubación, la concentración de 100% de aceite esencial de orégano, con un promedio de 27,49 mm, presenta mayor efectividad antimicótica frente a *Candida albicans*. El control positivo Nistatina tuvo un promedio de 12,36mm superando a la concentración de 25% de aceite de orégano con un promedio de 7,40mm; por otro lado, las sustancias de prueba anteriores.

Gráfico 1. Promedio de halo de inhibición del *Origanum vulgare* y el antifúngico Nistatina frente a *Candida albicans* ATCC 10231 en milímetros (mm) a las 24 horas en agar Sabouraud.

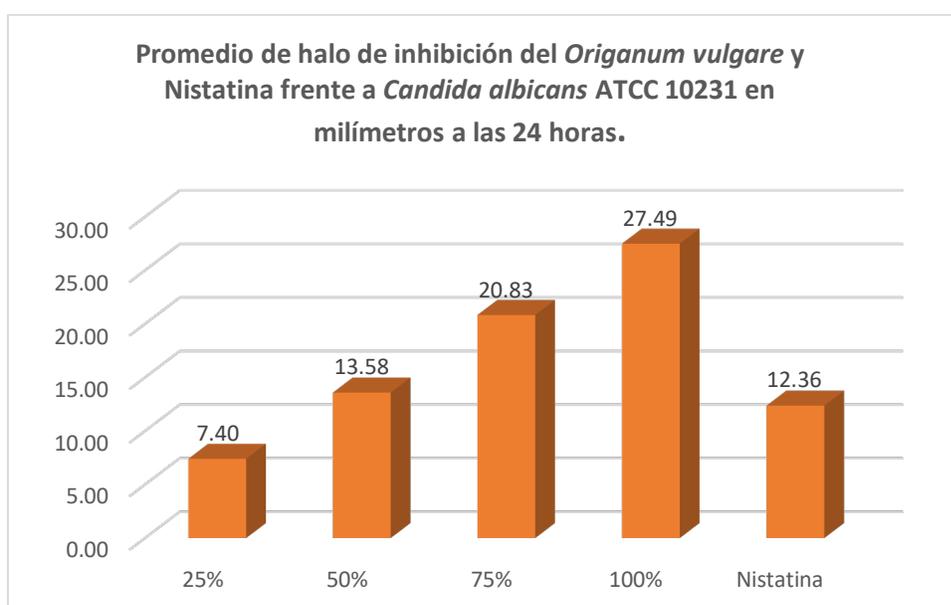


Tabla 3. Halos de inhibición del *Origanum vulgare* frente a *Candida albicans* ATCC 10231 en milímetros (mm) a las 48 horas

Nº Replica en placa Petri	Halo de inhibición del <i>Origanum vulgare</i> frente <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 en milímetros (mm) a las 48 horas en agar Sabouraud				
	25%	50%	75%	100%	Nistatina
1	6,8	13,8	19,1	23,4	13,2
2	7,5	15,0	20,9	25,7	12,6
3	8,8	13,2	19,3	26,3	13,8

4	7,1	13,3	22,4	28,5	12,4
5	7,9	15,1	19,8	27,2	11
6	6,7	14,1	18,7	27,4	12,9
7	7,2	12,7	23,2	33,3	12,3
8	8,1	14,3	23,0	26,9	10,6
9	8,3	13,6	21,1	28,7	13,6
10	6,7	12,9	21,8	27,9	12,3
11	8,2	14,2	22,5	29,6	14

Tabla 4. Comparación de estadísticos descriptivos de las mediciones de halo de inhibición en réplicas de *Origanum vulgare* frente *Candida albicans* ATCC 10231 en milímetros a las 48 horas

	Estadísticos descriptivos								
	N Estadístico	Rango Estadístico	Mínimo Estadístico	Máximo Estadístico	Suma Estadístico	Media Estadístico	Desv. Error	Desv. Desviación Estadístico	Varianza Estadístico
25%	11	2,10	6,70	8,80	83,30	7,5727	,21954	,72814	,530
50%	11	2,40	12,70	15,10	152,20	13,8364	,23904	,79281	,629
75%	11	4,50	18,70	23,20	231,80	21,0727	,49435	1,63957	2,688
100%	11	9,90	23,40	33,30	304,90	27,7182	,75122	2,49151	6,208
Nistatina	11	3,40	10,60	14,00	138,70	12,6091	,32514	1,07838	1,163
N válido (por lista)	11								

Según la **tabla 4**, a las 48 horas, hubo un ligero incremento en los promedios de los halos de inhibición de todas las concentraciones de aceite de orégano (25%: 7,57mm; 50%: 13,84mm; 75%: 21.07mm 100%: 27.72mm) incluyendo el control Nistatina (Promedio: 12,61mm), es decir, se incrementó la efectividad antimicótica de todas las concentraciones de *Origanum vulgare* y el antifúngico con respecto a las 24 horas.

Gráfico 2. Promedio de halo de inhibición del *Origanum vulgare* y el antifúngico Nistatina frente a *Candida albicans* ATCC 10231 en milímetros (mm) a las 48 horas en agar Sabouraud.

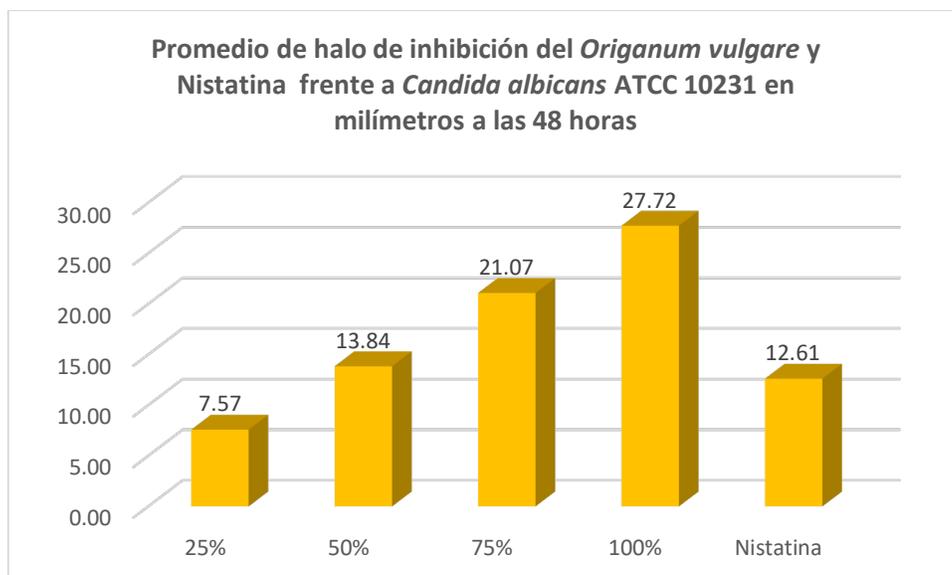


Tabla 5. Halos de inhibición del *Origanum vulgare* frente a *Candida albicans* ATCC 10231 en milímetros (mm) a las 72 horas

Nº Replica en placa Petri	Halo de inhibición del <i>Origanum vulgare</i> frente <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 en milímetros (mm) a las 72 horas en agar Sabouraud				
	25%	50%	75%	100%	Nistatina
1	7,0	14,0	19,4	23,7	13,4
2	7,7	15,3	21,2	26,1	12,8
3	8,9	13,4	19,5	26,6	14,1
4	7,2	13,5	22,7	28,8	12,7
5	8,1	15,4	20,3	27,3	11,2
6	6,8	14,5	19,1	27,8	13,2
7	7,4	12,9	23,4	33,5	12,5
8	8,3	14,7	23,2	27,2	10,7
9	8,4	13,7	21,3	28,9	13,9

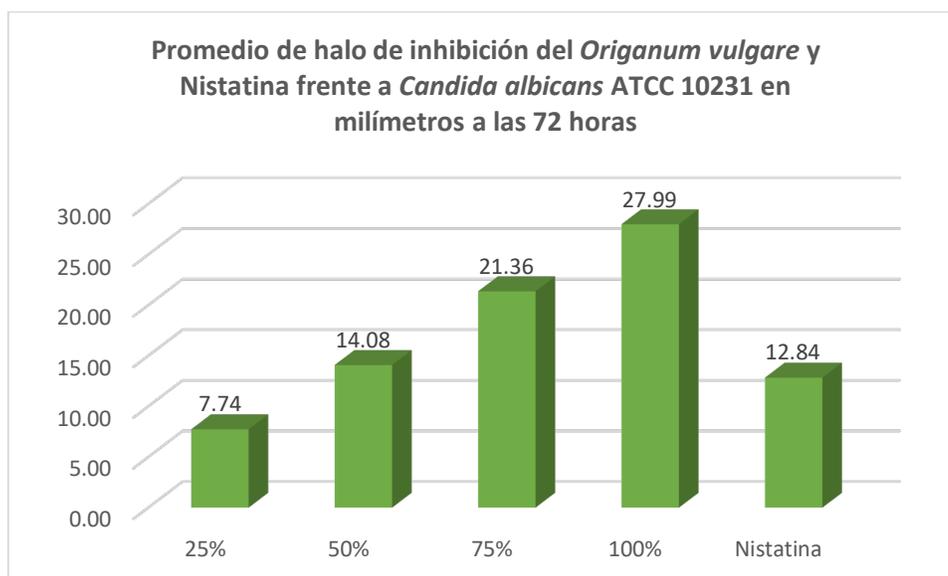
10	6,9	13,1	22,1	28,2	12,5
11	8,4	14,4	22,8	29,8	14,2

Tabla 6. Comparación de estadísticos descriptivos de las mediciones de halo de inhibición en réplicas de *Origanum vulgare* frente *Candida albicans* ATCC 10231 en milímetros a las 72 horas

Estadísticos descriptivos									
	N	Rango	Mínimo	Máximo	Suma	Media	Desv. Error	Desv. Desviación	Varianza
	Estadístico	Estadístico							
25%	11	2,10	6,80	8,90	85,10	7,7364	,21754	,72149	,521
50%	11	2,50	12,90	15,40	154,90	14,0818	,25578	,84831	,720
75%	11	4,30	19,10	23,40	235,00	21,3636	,48172	1,59767	2,553
100%	11	9,80	23,70	33,50	307,90	27,9909	,73983	2,45375	6,021
Nistatina	11	3,50	10,70	14,20	141,20	12,8364	,33744	1,11917	1,253
N válido (por lista)	11								

Según la **tabla 6**, a las 72 horas, los niveles de eficacia antimicótica de los halos de inhibición de las concentraciones de 25%: (promedio: 7,74mm); 50% (promedio: 14,08mm); 75% (promedio: 21,36mm) y 100%: (promedio: 27,99mm) fueron superiores a los descritos a las 48 horas de incubación. El promedio del halo de inhibición de la Nistatina (12,84mm) fue superior que el de 48 horas y, además, superior al de la concentración de *Origanum vulgare* al 25%. Por lo cual, se concluye que a las 72 horas hubo un incremento en la eficacia antimicótica en todas las sustancias de prueba con respecto a las 48 horas.

Gráfico 3. Promedio de halo de inhibición del *Origanum vulgare* y el antifúngico Nistatina frente a *Candida albicans* ATCC 10231 en milímetros (mm) a las 72 horas en agar Sabouraud



4.1.2. Análisis inferencial

Hipótesis de investigación (H_1)

*“El aceite esencial de *Origanum vulgare* presenta efecto inhibitorio sobre el crecimiento de *Candida albicans*.”*

Hipótesis nula (H_0)

*El aceite esencial de *Origanum vulgare* no presenta efecto inhibitorio sobre el crecimiento de *Candida albicans*.”*

Se evaluó la prueba Games Howell, todas las réplicas realizadas en los ensayos en las concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% a las 24,48 y 72 horas de aceite esencial de *Origanum vulgare* son diferentes de cero con respecto al halo de inhibición en milímetros, dado a que en la prueba Games Howell, el valor p obtenido es menor al nivel de significancia. Por la cual se rechaza la **hipótesis nula** y se acepta **la hipótesis de investigación**: El aceite esencial de *Origanum vulgare* presenta efecto inhibitorio sobre el crecimiento de *Candida albicans*.

Hipótesis específica 1

*El aceite esencial de *Origanum vulgare* al 25% presenta efecto inhibitorio sobre el crecimiento de *Candida albicans*.”*

Hipótesis nula 1

*El aceite esencial de *Origanum vulgare* al 25% no presenta efecto inhibitorio sobre el crecimiento de *Candida albicans*”*

Tabla 7. Prueba Games Howell para comprobar la efectividad antimicótica de aceite esencial de *Origanum vulgare* frente a *Candida albicans* a las 24 horas

	(I) VAR00002	(J) VAR00002	Diferencia de medias (I-J)	Desv. Error	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
						Límite inferior	Límite superior
Games-Howell	,00	25,00	-7,40000*	,22442	,000	-8,1386	-6,6614
		50,00	-13,58182*	,23348	,000	-14,3502	-12,8134
		75,00	-20,82727*	,49856	,000	-22,4681	-19,1865
		100,00	-27,49091*	,75492	,000	-29,9754	-25,0064
	25,00	,00	7,40000*	,22442	,000	6,6614	8,1386
		50,00	-6,18182*	,32385	,000	-7,1510	-5,2126
		75,00	-13,42727*	,54674	,000	-15,1327	-11,7219
		100,00	-20,09091*	,78757	,000	-22,6096	-17,5722
	50,00	,00	13,58182*	,23348	,000	12,8134	14,3502
		25,00	6,18182*	,32385	,000	5,2126	7,1510
		75,00	-7,24545*	,55052	,000	-8,9578	-5,5331
		100,00	-13,90909*	,79020	,000	-16,4313	-11,3869
	75,00	,00	20,82727*	,49856	,000	19,1865	22,4681
		25,00	13,42727*	,54674	,000	11,7219	15,1327
		50,00	7,24545*	,55052	,000	5,5331	8,9578
		100,00	-6,66364*	,90469	,000	-9,4103	-3,9169
100,00	,00	27,49091*	,75492	,000	25,0064	29,9754	
	25,00	20,09091*	,78757	,000	17,5722	22,6096	
	50,00	13,90909*	,79020	,000	11,3869	16,4313	
	75,00	6,66364*	,90469	,000	3,9169	9,4103	

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

Según la **tabla 7**, todos los grupos de resultados de las concentraciones de aceite de orégano a las 24 horas son diferentes significativamente entre sí y diferentes de cero, puesto que a los p valor (sig.) son menores a 0.05 (nivel de significancia), por lo tanto, se acepta la hipótesis específica

Hipótesis específica 2

El aceite esencial de *Origanum vulgare* al 50% presenta efecto inhibitorio sobre el crecimiento de *Candida albicans*.

Hipótesis nula 2

El aceite esencial de *Origanum vulgare* al 50% no presenta efecto inhibitorio sobre el crecimiento de *Candida albicans*.

Tabla 8. Prueba Games Howell para comprobar la efectividad antimicótica de aceite esencial de *Origanum vulgare* frente a *Candida albicans* a las 48 horas

	(I) VAR00002	(J) VAR00002	Diferencia de medias (I-J)	Desv. Error	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
						Límite inferior	Límite superior
Games-Howell	,00	25,00	-7,57273 [*]	,21954	,000	-8,2953	-6,8502
		50,00	-13,83636 [*]	,23904	,000	-14,6231	-13,0497
		75,00	-21,07273 [*]	,49435	,000	-22,6997	-19,4458
		100,00	-27,71818 [*]	,75122	,000	-30,1905	-25,2459
	25,00	,00	7,57273 [*]	,21954	,000	6,8502	8,2953
		50,00	-6,26364 [*]	,32456	,000	-7,2355	-5,2918
		75,00	-13,50000 [*]	,54091	,000	-15,1888	-11,8112
		100,00	-20,14545 [*]	,78264	,000	-22,6504	-17,6405
	50,00	,00	13,83636 [*]	,23904	,000	13,0497	14,6231
		25,00	6,26364 [*]	,32456	,000	5,2918	7,2355
		75,00	-7,23636 [*]	,54911	,000	-8,9404	-5,5323
		100,00	-13,88182 [*]	,78833	,000	-16,3944	-11,3692
	75,00	,00	21,07273 [*]	,49435	,000	19,4458	22,6997
		25,00	13,50000 [*]	,54091	,000	11,8112	15,1888
		50,00	7,23636 [*]	,54911	,000	5,5323	8,9404
		100,00	-6,64545 [*]	,89928	,000	-9,3764	-3,9145
	100,00	,00	27,71818 [*]	,75122	,000	25,2459	30,1905
		25,00	20,14545 [*]	,78264	,000	17,6405	22,6504
		50,00	13,88182 [*]	,78833	,000	11,3692	16,3944
		75,00	6,64545 [*]	,89928	,000	3,9145	9,3764

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

Según la **tabla 8**, todos los grupos de resultados de las concentraciones de aceite de orégano a las 48 horas son diferentes significativamente entre sí y diferentes de cero, puesto que a los p valor (sig.) son menores a 0.05 (nivel de significancia), por lo tanto, se acepta la hipótesis específica.

Hipótesis de investigación 3

El aceite esencial de *Origanum vulgare* al 75% presenta efecto inhibitorio sobre el crecimiento de *Candida albicans*.

Hipótesis nula 3

El aceite esencial de *Origanum vulgare* al 75% no presenta efecto inhibitorio sobre el crecimiento de *Candida albicans*.

Tabla 9. Prueba Games Howell para comprobar la efectividad antimicótica de aceite esencial de *Origanum vulgare* frente a *Candida albicans* a las 72 horas

	(I) VAR00002	(J) VAR00002	Diferencia de medias (I-J)	Desv. Error	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
						Límite inferior	Límite superior
Games-Howell	,00	25,00	-7,73636*	,21754	,000	-8,4523	-7,0204
		50,00	-14,08182*	,25578	,000	-14,9236	-13,2400
		75,00	-21,36364*	,48172	,000	-22,9490	-19,7783
		100,00	-27,99091*	,73983	,000	-30,4258	-25,5561
	25,00	,00	7,73636*	,21754	,000	7,0204	8,4523
		50,00	-6,34545*	,33577	,000	-7,3526	-5,3383
		75,00	-13,62727*	,52856	,000	-15,2756	-11,9790
		100,00	-20,25455*	,77115	,000	-22,7220	-17,7870
	50,00	,00	14,08182*	,25578	,000	13,2400	14,9236
		25,00	6,34545*	,33577	,000	5,3383	7,3526
		75,00	-7,28182*	,54541	,000	-8,9629	-5,6008
		100,00	-13,90909*	,78280	,000	-16,3928	-11,4254
	75,00	,00	21,36364*	,48172	,000	19,7783	22,9490
		25,00	13,62727*	,52856	,000	11,9790	15,2756
		50,00	7,28182*	,54541	,000	5,6008	8,9629
		100,00	-6,62727*	,88284	,000	-9,3100	-3,9445
100,00	,00	27,99091*	,73983	,000	25,5561	30,4258	
	25,00	20,25455*	,77115	,000	17,7870	22,7220	
	50,00	13,90909*	,78280	,000	11,4254	16,3928	
	75,00	6,62727*	,88284	,000	3,9445	9,3100	

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

Según la **tabla 9**, todos los grupos de resultados de las concentraciones de aceite de orégano a las 72 horas son diferentes significativamente entre sí y diferentes de cero, puesto que a los p valor (sig.) son menores a 0.05 (nivel de significancia), por lo tanto, se acepta la hipótesis específica.

4.1.2. Discusión de los resultados

El presente estudio fue de diseño experimental, longitudinal, prospectivo, el cual se realizó en el análisis de 11 placas Petri con discos embebidos de aceite esencial de *Candida albicans* en concentraciones al 25%, 50%, 75% y 100% evaluados en 24h, 48h y 72h, siendo el objetivo del estudio determinar la efectividad inhibitoria antimicótica frente a cepas de *Candida albicans*.

En la investigación se demostró que en todos los porcentajes de concentración hubo efecto inhibitorio antimicótico significativo, observándose un mayor halo de inhibición promedio en la concentración al 100%. En la misma línea el estudio de **Valverde P. (2017)**, llegó a la conclusión que el aceite esencial de la planta de orégano al 100%. Teniendo como resultado que los valores de efectividad antimicótica fueron superiores frente a cepas de *Candida albicans* en comparación con la nistatina. Por otro lado, **López et al. (2018)** obtuvo como resultado que todas las muestras tuvieron efecto inhibitorio sobre *Candida albicans*, siendo la emulsión con la matriz de goma arábica la que tuvo mayor halo de inhibición con una medida de 11.75mm.

De acuerdo a las diversas concentraciones en las 24 y 48 horas a las 48 horas, hubo un ligero incremento en los promedios de los halos de inhibición de todas las concentraciones de aceite de orégano (25%: 7,57mm; 50%: 13,84mm; 75%: 21.07mm 100%: 27.72mm) es decir, se incrementó la efectividad antimicótica de todas las concentraciones de *Origanum vulgare* y de Nistatina donde esta siguió obteniendo la media más baja. Esto guarda relación con lo encontrado por **Colpa M. (2016)**, el cual encontró que el halo de inhibición para el *Origanum vulgare* fue de 45.73mm y 46.35mm a las 24 y 48 horas respectivamente, teniendo siempre superioridad a nivel de la Nistatina, teniendo diferencias estadísticamente significativas en el total de comparaciones de las diferentes concentraciones ($p=0.000$) a las 24 y 48 horas. Esta

similitud es válida ya que dicho autor trabajó con 80 placas, lo cual indica una mayor cantidad de muestras evaluadas teniendo mayor significancia.

Respecto a la concentración evaluada al 75% en todas las horas evaluadas ocupa el tercer lugar respecto al promedio de los halos de inhibición obteniendo 20.82mm, 21.07mm, 21.36mm. Esto sucede en la mayoría de estudios siendo ejemplo de ello, **García A. (2018)** donde evaluó el aceite y determinó que los promedios de halos de inhibición fueron 9.9mm para la concentración al 25%, 17.9 mm al 50%, 20.7 mm al 75% y 22.9 mm al 100%. Como conclusión se encontró que existe diferencia estadísticamente significativa de promedios entre las diferentes concentraciones, además la concentración de 75% ocupa el tercer lugar en halos de inhibición, además el extracto etanólico de *Origanum vulgare* al 100% tuvo mayor efecto inhibitorio frente a *Candida albicans*. Estos resultados demuestran que las concentraciones elevadas de aceite esencial de orégano tienen un mayor efecto antimicótico, realizándose también con el mismo método de aplicación de aceite esencial en discos embebidos. Por otro lado, **Quintanilla J. (2016)** evaluó las concentraciones de aceite de carvacrol (orégano) al 25 % se obtuvo una media de 8.43mm, para la concentración del 50% se obtuvo una media de 11.84mm, para la concentración del 75% una media de 13.67mm y para la concentración del 100% una media de 21.91mm. La CMI para la acción antifúngica fue de 100%, (1000 mg/ml). Como conclusión se encontró que el carvacrol, como extracto de aceite de orégano, sí tiene buen efecto inhibitorio in vitro contra *Candida albicans*, siendo su mayor efecto al 100%, este estudio se realizó utilizando la técnica de Kirby Bauer, utilizando el carvacrol como principio activo.

Respecto al estudio a las 72 horas, los niveles de eficacia antimicótica de los halos de inhibición de las concentraciones de 25%: (promedio: 7,74mm); 50% (promedio: 14,08mm); 75% (promedio: 21,36mm) y 100%: (promedio: 27,99mm) fueron superiores a los descritos a las 48

horas y 24 horas de incubación. Lo cual guarda relación con lo descrito por **Alca Y. (2019)** donde demostró que el aceite esencial *Origanum vulgare* al 50% su efecto antifúngico es sensible (+) con una media de 9 a 14 mm, al 75% su efecto antifúngico es muy sensible (++) con una media de 15 a 20 mm, al 100% su efecto antifúngico altamente sensible (+++) con una media mayor a 20mm sobre *Candida albicans*. Cabe resaltar que el aceite esencial de orégano al ser comparado con otras sustancias tiene mayor efecto antimicótico inhibitorio en todas las concentraciones. Así como lo expuesto por **Durando et al. (2020)** encontrando como resultado que la diferencia de las medias entre los diámetros de los halos de inhibición de las concentraciones al 25%, 50%, 75% y 100% del aceite esencial de *Eucalyptus globulus* y del aceite esencial de *Origanum vulgare* es significativa ($p = .0000$), Como conclusión el aceite esencial de *Eucalyptus globulus* presenta menor efecto inhibitorio que el aceite esencial de *Origanum vulgare* sobre *Candida albicans*. A excepción del estudio de **Villavicencio J. (2017)** donde utilizó aceites esenciales de orégano de diversas clases y distintas regiones del Perú donde todos tuvieron efectos inhibitorios antimicóticos excepto al compararlo con el miconazol.

CAPITULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

Se concluye que el aceite esencial de orégano presenta un efecto inhibitorio antimicótico significativo sobre *Candida albicans* al 25%, 50%, 75% y 100%; este último fue el que presentó un mayor efecto inhibitorio antimicótico.

5.2. Recomendaciones

Se recomienda realizar futuras investigaciones relacionadas al tema con mayores cantidades de muestra para poder sacar conclusiones con una mayor amplitud de población y trabajar con aceites esenciales de orégano provenientes de distintos departamentos del Perú con la finalidad de potenciar los efectos inhibitorios antimicóticos.

Se sugiere implementar y diseñar nuevos estudios comparando aceites esenciales de orégano con otras especies de origen vegetal y animal.

Se debe fomentar estos tipos de investigación a nivel nacional con el objetivo de poder encontrar efectos antimicóticos que puedan ser complementados para su uso en futuros medicamentos con el objetivo de reducir los efectos de ciertas enfermedades.

REFERENCIAS

- 1.- Lazo V, Hernández G, Méndez R. Candidiasis sistémica en pacientes críticos, factores predictores de riesgo. *Horiz Med* 2018; 18(1): 75-85.
- 2.- Aguirre J. Candidiasis orales. *Revista Iberoamericana de Micología*. 2002;19: 17-21.
- 3.- Carranza F, Takei H, Newman M. *Carranza Periodontología Clínica*. Novena ed. Madrid: Mc Graw Hill; 2002.
- 4.- Sapp P, Eversole, Wysocki. *Patología Oral y Maxilofacial contemporánea*. Segunda ed. Madrid: Elsevier; 2005.
- 5.- Otero R, Peñamaría M, Rodríguez, Martín, Blanco. Candidiasis oral en el paciente mayor. *Avances en Odontoestomatología*. 2015; 31(3).
- 6.- Calixto M. Plantas medicinales utilizadas en odontología (Parte I). *KIRU*. 2006; 2: 80-5.
- 7.- Valverde P. Efectividad antimicótica del aceite esencial de orégano de las provincias de Chimborazo y santa elena al 100% de concentración sobre candida albicans. Tesis pregrado. Universidad Central del Ecuador. Quito - Ecuador:2017.
- 8.- Colpa, M. Efecto inhibitor del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) y *Menta piperita* (menta) frente a cepas de *Candida Albicans*. Tesis pregrado. Universidad Privada Norbert Wiener. Lima - Perú:2016.
- 9.- García Y, Álvaro L. Efecto Antifúngico del Extracto Etanólico de *Origanum vulgare* (orégano) sobre candida albicans ATCC 10231. Tesis pregrado. Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote. Trujillo:2018.
- 10.- Villavicencio J, Hilda N, Salcedo D, Pineda M, Ramos D, Zambrano L, Martínez Cadillo, Mendoza M. Efecto antimicótico in vitro del orégano (*Origanum vulgare*) en cepas de *Candida*

albicans. Odontol. Sanmarquina 2016; 19(2): 5-8. DOI:
<http://dx.doi.org/10.15381/os.v19i2.12907>.

11.- Durango O, Mejía E. Comparación del efecto in vitro de los aceites esenciales de *Eucalyptus globulus* y *Origanum vulgare* sobre *Candida albicans* aislada de paciente con candidiasis vulvovaginal. Rev. Méd. Trujillo 2020;15(1):11-25. DOI:
<http://dx.doi.org/10.17268/rmt.2020.v15i01.03>

12.- Quintanilla J. Efecto antibacteriano in vitro del carvacrol (aceite de orégano) sobre *Candida albicans*. Revista de Investigación de la Universidad Norbert Wiener- 2016, N.º 5.

13.- López R, Espinosa, H, García E, Herrera R. Efecto antifúngico de emulsiones a base de aceite esencial de orégano mexicano (*Lippia graveolens*), contra *Candida albicans*. Revista Salud Jalisco - Año 5, Número 1 - enero-abril de 2018.

14.-Alca Y. Efectividad Antifúngica in vitro individual y su asociación de los aceites esenciales *origanum vulgare* (orégano) y *cinnamomun zeylanicum* (canela) a diferentes concentraciones sobre *Candida albicans* – Cusco- Rev. Ciencia 2019 6 (1):44.

15.- Maravi F. Efecto antibacteriano y antifúngico del aceite esencial de *Mentha piperita* (menta), *Origanum vulgare* (orégano) y *Cymbopogon citratus* (hierba luisa) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, *Lactobacillus acidophilus* ATCC 10746 y *Candida albicans* ATCC 90028. Tesis pregrado. Universidad Privada Norbert Wiener. Lima- Perú:2012.

16.- Gonzales Y, Torres O. Utilización del orégano (*Origanum vulgare*) como promotor de crecimiento. Conexión Agropecuaria Vol. 6, No 2, Jul- dic 2016. pp 57:71-57.

17.- Reza T, Vahid C, Farhang H, Mansour H, Shokouhozaman S. *Origanum vulgare* leaf extract protects mice bone marrow cells against ionizing radiation. AJP, Vol. 6, No. 6, Nov-Dic 2016.

18.- Suntres ZE, Coccimiglio J, Alipour M. The Bioactivity and Toxicological Actions of Carvacrol. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 2015 feb 23;55(3):304– 18.

- 19.- Pimentel R, Castillo A, Quintana S, Maurtua T, Villegas V, Díaz S. Efecto antibacteriano de extractos etanólicos de plantas utilizadas en las tradiciones culinarias andinas sobre microorganismos de la cavidad bucal. *Revista Estomatológica Herediana*. Octubre –Diciembre del 2015; 25(3):268-277.
- 20.- López K, Dzul K, Lugo C, Arias J, Zavala J. Mecanismos de resistencia antifúngica de los azoles en *Candida albicans*. Una revisión. *Revista Biomédica* 2016; 27:127–136.
- 21.- Carhuallanqui A, Salazar M, Ramos D. Efecto antimicrobiano del aceite esencial de Orégano frente a *Listeria monocytogenes* y *Staphylococcus aureus*. *Rev. investig. Altoandin.* [Internet]. 2020 Mar [citado 2021 Ago 05]; 22(1):25-33.
- 22.- Jnaid Y, Yacoub R, Al-Biski F. Antioxidant and antimicrobial activities of *Origanum vulgare* essential oil. *Int Food Res J.* 2016; 23(4):1706-10.
- 23.- Algunas consideraciones sobre *Candida Albicans* como agente etiológico de candidiasis bucal. *Acta odontol. venez* [Internet]. Enero de 2002 [consultado el 27 de diciembre de 2021]; 40 (1): 9-17. Disponible en: http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0001-63652002000100003&lng=en.
- 24.- . De Castro R, de Souza T, Bezerra L, Ferreira G, Costa E, Cavalcanti A. Antifungal activity and mode of action of thymol and its synergism with nystatin against *Candida* species involved with infections in the oral cavity: an in vitro study. *BMC Complement Altern Med.* 2015 Nov 24;15:417.
- 25.- 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.

- 26.- Bona E, Cantamessa S, Pavan M, Novello G, Massa N, et al. Sensitivity of *Candida albicans* to essential oils: are they an alternative to antifungal agents *J Appl Microbiol*. 2016 Dec;121(6):1530-1545. doi: 10.1111/jam.13282.
- 27.- González E, Gómez M. Natural Products for Vulvovaginal Candidiasis Treatment: Evidence from Clinical Trials. *Curr Top Med Chem*. 2018;18(15):1324-1332. doi: 10.2174/1568026618666181002111341.
- 28.- Shahina Z, El-Ganiny A, Minion J, Whiteway M, Sultana T, Dahms E. *Cinnamomum zeylanicum* bark essential oil induces cell wall remodelling and spindle defects in *Candida albicans*. *Fungal Biol Biotechnol* (2018) 5:3 <https://doi.org/10.1186/s40694-018-0046-5>
- 29.- Manoharan RK, Lee JH, Kim YG, Kim SI, Lee J. Inhibitory effects of the essential oils α -longipinene and linalool on biofilm formation and hyphal growth of *Candida albicans*. *Biofouling*. 2017 feb;33(2):143-155.
- 30.- Tellez L, Nolazco D. Estudio de la composición química del aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare* spp.) de Tacna. *Ing. ind. (Lima)* [Internet]. 21 de diciembre de 2017 [citado 22 de septiembre de 2021];0(035):195-0. Disponible en: https://revistas.ulima.edu.pe/index.php/Ingenieria_industrial/article/view/1801
- 31.- Rivera M, Arenas M, Juárez M, Luna M, Luna G. Evaluación de la capacidad antimicrobiana de aceites esenciales de orégano (*Origanum vulgare*), en fase de vapor sobre *Salmonella* entérica, en un emulsionado cárnico. *Avances de Investigación en Inocuidad de alimentos*. 2019; 2(1).
- 32.- Ochoa Y, Hernández A, Delgado J, Hernández O, Cerna E, Aguirre L, Tapia L. Control orgánico in vitro de *Phytophthora cinnamomi* con aceites esenciales de orégano y clavo. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 2019: 10(4), 961-968. <https://doi.org/10.29312/remexca.v10i4.1739>

- 33.- Ramírez, S. López O. Espinosa S. Wong, A. Actividad antifúngica de hidrodestilados y aceites sobre *Alternaria solani*, *Fusarium oxysporum*, *Colletotrichum gloesporioides*. Rev. Mex. Cienc. Agríc. 2016; 7(8):1879-1891.
- 34.- Campozano G. Arteaga F. Pérez A. García J. Garzón R. Aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare* L) y sexo como factores en la respuesta productiva en pollos de engorde. Revista de Producción Animal, 2021: 33(1), 37-48.
- 35.- Eler G, Gomes A, Trindade B, Almeida L, Dilelis F, Cardoso V. et al. Oregano essential oil in the diet of broilers: performance, carcass characteristics, and blood parameters. S. Afr. j. anim. sci. [Internet]. 2019 [cited 2021 Dec 21]; 49(4):753-762. Available from:[http://www.scielo.org.za/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S037515892019000400016](http://www.scielo.org.za/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S037515892019000400016&lng=en) &lng=en. <http://dx.doi.org/10.4314/sajas.v49i4.17>.
- 36.- Galal, A., El-Araby I. Hassanin, O. Omar, A. Positive impact of oregano essential oil on growth performance, humoral immune responses and chicken interferon alpha signalling pathway in broilers. Adv. Anim. Vet. Sci, 2016; 4(1), 57-65. doi: <http://dx.doi.org/10.14737/journal.aavs/2016/4.1.57.65>
- 37.- Hernández R. Fernández C, Baptista M. Metodología de la investigación científica. 6ed. México: Mc Graw Hill; 2014.
- 38.- Supo J. Niveles y tipos de investigación: Seminarios de investigación. Perú: Bioestadístico; 2015.
- 39.- Valderrama M., S. Pasos para elaborar proyectos de investigación científica. Lima. Editorial San Marcos; 2015.
- 40- Abad G. Consentimiento informado en investigación clínica. Comité Ético de Investigación Clínica del hospital de Sagunto. Enero 2019.

41.- Asociación Médica Mundial. [Internet]. WMA; 2016. [citado 22 set 2021]. Declaración de Helsinki de la AMM - Principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos. Disponible en: [http://www.wma.net/es/30publications/. 10policies/b3/](http://www.wma.net/es/30publications/.10policies/b3/)

ANEXO

Anexo N° 1

MATRIZ DE CONSISTENCIA

**Título de proyecto: EFECTIVIDAD ANTIMICÓTICA DEL ACEITE ESENCIAL
ORIGANUM VULGARE SOBRE CANDIDA ALBICANS**

Formulación del Problema	Objetivos	Hipótesis	Variables
<p>Problema General</p> <p>¿El aceite esencial de Origanum vulgare tiene efecto antimicótico sobre Candida Albicans?</p>	<p>Objetivo General</p> <p>Determinar el efecto antimicótico del aceite esencial de Origanum vulgare sobre Candida albicans.</p>	<p>Hipótesis General</p> <p>H: El aceite esencial de origanum vulgare presenta efecto inhibitorio sobre el crecimiento de candida albicans.</p>	<p>Variable 1: -Efecto Antifúngico</p>
<p>Problemas Específicos</p> <p>¿El aceite esencial de Origanum vulgare al 25 % de concentración tiene efecto antimicótico sobre Candida Albicans?</p> <p>¿El aceite esencial de Origanum vulgare al 50 % de concentración tiene efecto antimicótico sobre Candida Albicans?</p> <p>¿El aceite esencial de Origanum vulgare al 75 % de concentración tiene efecto antimicótico sobre Candida Albicans?</p> <p>¿El aceite esencial de Origanum vulgare al 100 % de concentración tiene efecto antimicótico sobre Candida Albicans?</p>	<p>Objetivos Específicos</p> <p>Determinar la efectividad antimicótica del aceite esencial de Origanum vulgare al 25% de concentración sobre Candida albicans.</p> <p>Determinar la efectividad antimicótica del aceite esencial de Origanum vulgare al 50% de concentración sobre Candida albicans.</p> <p>Determinar la efectividad antimicótica del aceite esencial de Origanum vulgare al 75% de concentración sobre Candida albicans.</p> <p>Determinar la efectividad antimicótica del aceite esencial de Origanum vulgare al 100% de concentración sobre Candida albicans.</p>	<p>Hipótesis Específicas</p> <p>H1: El aceite esencial de origanum vulgare al 25% presenta efecto inhibitorio sobre el crecimiento de candida albicans.</p> <p>H2: El aceite esencial de origanum vulgare al 50% presenta efecto inhibitorio sobre el crecimiento de candida albicans.</p> <p>H3: El aceite esencial de origanum vulgare al 75% presenta efecto inhibitorio sobre el crecimiento de candida albicans.</p> <p>H4: El aceite esencial de origanum vulgare al 100% presenta efecto inhibitorio sobre el crecimiento de candida albicans.</p>	<p>Variable 2: -Aceite esencial</p>

Anexo 2: Matriz de Operacionalización de variables

Variable 1: Efecto antifúngico

Definición Operacional: Es la capacidad para evitar la reproducción fúngica, estará determinado luego de medir los halos de inhibición.

Matriz operacional de la variable

Dimensiones	Indicadores	Escala de medición	Escala valorativa
-----	Medición de diámetros de los halos de inhibición	Razón	Milímetros

Variable 2: Aceite Esencial

Definición Operacional: Aceite esencial concentrado que es obtenido a partir de la destilación del orégano y será presentado en las siguientes concentraciones 25%, 50%.75% y 100%.

Matriz operacional de la variable

Dimensiones	Indicadores	Escala de medición	Escala valorativa
-----	-Aceite esencial de Origanum vulgare al 25%. -Aceite esencial de origanum vulgare al 50%. -Aceite esencial de origanum vulgare al 75%. -Aceite esencial de origanum al 100%.	Nominal	Presencia Ausencia

Anexo N° 3 FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Medición de halos de inhibición del *Origanum vulgare* sobre *Candida albicans*

a las 24 horas

Patógeno Candida Albicans	Concentración del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> "Orégano"				Nistatina
	25%	50%	75%	100%	
					Control
Muestra 1	6,7	13,5	18,8	23,1	13
Muestra 2	7,3	14,7	20,6	25,5	12,5
Muestra 3	8,6	12,9	19,0	26,1	13,6
Muestra 4	6,9	13,1	22,1	28,3	12,1
Muestra 5	7,8	14,8	19,6	26,9	10,8
Muestra 6	6,5	13,9	18,5	27,2	12,6
Muestra 7	7,1	12,4	23,1	33,1	11,9
Muestra 8	7,8	14,1	22,7	26,7	10,3
Muestra 9	8,2	13,3	20,9	28,5	13,4
Muestra 10	6,4	12,8	21,5	27,7	12,1
Muestra 11	8,1	13,9	22,3	29,3	13,7

Medición de halos de inhibición del *origanum vulgare* sobre *candida albicans* a las 48 horas

Patógeno Candida Albicans	Concentración del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> "Orégano"				Nistatina Control
	25%	50%	75%	100%	
Muestra 1	6,8	13,8	19,1	23,4	13,2
Muestra 2	7,5	15,0	20,9	25,7	12,6
Muestra 3	8,8	13,2	19,3	26,3	13,8
Muestra 4	7,1	13,3	22,4	28,5	12,4
Muestra 5	7,9	15,1	19,8	27,2	11
Muestra 6	6,7	14,1	18,7	27,4	12,9
Muestra 7	7,2	12,7	23,2	33,3	12,3
Muestra 8	8,1	14,3	23,0	26,9	10,6
Muestra 9	8,3	13,6	21,1	28,7	13,6
Muestra 10	6,7	12,9	21,8	27,9	12,3
Muestra 11	8,2	14,2	22,5	29,6	14

Medición de halos de inhibición del *origanum vulgare* sobre *candida albicans* a las 72 horas

Patógeno Candida Albicans	Concentración del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> "Orégano"				Nistatina Control
	25%	50%	75%	100%	
Muestra 1	7,0	14,0	19,4	23,7	13,4
Muestra 2	7,7	15,3	21,2	26,1	12,8
Muestra 3	8,9	13,4	19,5	26,6	14,1
Muestra 4	7,2	13,5	22,7	28,8	12,7
Muestra 5	8,1	15,4	20,3	27,3	11,2
Muestra 6	6,8	14,5	19,1	27,8	13,2
Muestra 7	7,4	12,9	23,4	33,5	12,5
Muestra 8	8,3	14,7	23,2	27,2	10,7
Muestra 9	8,4	13,7	21,3	28,9	13,9
Muestra 10	6,9	13,1	22,1	28,2	12,5
Muestra 11	8,4	14,4	22,8	29,8	14,2

ANEXO 4

CERTIFICADO DE CEPA CANDIDA ALBICANS ATCC 10231

thermo scientific

Certificate of Quality

Product Name: C. albicans ATCC 10231 PK/5
Lot Number: 481790

Product Number: R4601503
Expiration Date: 2021-08-12
(YYYY-MM-DD)

This product has been manufactured, processed and packaged in accordance with Quality Systems Regulation, 21 CFR Part 820. Representative samples were tested per Remel Inc., a part of Thermo Fisher Scientific Quality Control specifications and were found to meet performance criteria for this product.

Purity:

Standardized aliquots of the rehydrated product are inoculated onto nonselective media and examined for pure growth following the appropriate incubation. Selective and Differential media are also tested where applicable.

Viability And Quantification:

Each organism is recovered from the preserved state within the required time frame and at an acceptable level. Passage number is stated as the current preserved state.

Macroscopic And Microscopic Morphology:

Colony morphology is consistent with documented referenced description. Traditional staining is performed.

Biochemical Analysis:

Organism exhibits characteristic biochemical and/or enzymatic reactions. Automated and/or conventional testing was performed and results were within established limits. Antimicrobial testing performed where applicable. Results within expected ranges.

CFU/loop: >10(4)

Passage: 3

Gram Reaction: Gram Positive Yeast

Biochemical Profile: Vitek 2C YST

Appearance: Preserved Gel Matrix suspended in inoculating loop pH: N/A

Signed



Quality Assurance Supervisor

ANEXO 5

REGISTRO SANITARIO DEL ACEITE ESENCIAL DE ORÉGANO VULGARE

			10044-2021 Nro. Exp. 31735-2021-R
REGISTRO SANITARIO Para la puesta en el mercado nacional de alimentos y bebidas de consumo humano REGISTRO ACTIVO			
A. EMPRESA			
GRUPO ORO MUNDO SOCIEDAD COMERCIAL DE RESPONSABILIDAD LIMITADA - GRUP. OROMUN S.R.L.			
RUC: 20601154499			
CAL. BOLOGNESI NRO. S/N ESTIQUE PUEBLO , ESTIQUE, TARATA, TACNA			
Teléfono/Fax: -----			
Rep. Legal: TORRES CHAMBILLA VICTOR EDWIN			
B. ESTABLECIMIENTO			
GRUPO ORO MUNDO SOCIEDAD COMERCIAL DE RESPONSABILIDAD LIMITADA - GRUP. OROMUN S.R.L.			
CAL. BOLOGNESI NRO. S/N ESTIQUE PUEBLO , , ESTIQUE, TARATA, TACNA			
C. ALIMENTOS Y BEBIDAS			Código del Registro Sanitario
1. ACEITE DE ORÉGANO PARA USO CULINARIO - GOTAS DE VIDA, CENTAURO DE LAS VILCAS, OROMUN, SPIRIT PLANTAS, AGROINDUSTRIAS FERRETTY "GOTA DE VIDA", "CENTAURO DE LAS VILCAS", "OROMUN", "SPIRIT PLANTAS", "AGROINDUSTRIAS FERRETTY", en botella, bidón, frasco, pote de vidrio, PP, PE, PS, PVC, PS, PET, PC de 1 mL hasta 100 L, caja de cartón, cartulina de 1 mL hasta 50 L / de 1 unidad hasta 1000 unidades, botella, bidón, balde, bolsa, sachet de polietileno, polipropileno, BOPP, laminado, aluminizado, metalizado, plástico de 1 mL hasta 100 L. Vida Útil del Producto: 6 años			
D. REGISTRO			
La Dirección General de Salud Ambiental autoriza la inscripción o reinscripción en el Registro Sanitario de Alimentos y Bebidas de Consumo Humano de los productos descritos en el ítem C bajo las siguientes condiciones:			
a. La empresa y su representante legal son solidariamente responsables de que los productos descritos en el ítem C sean puestos en el mercado nacional en condiciones inócuas y aptas para el consumo humano.			
b. El envase del producto debe consignar el Código del Registro Sanitario, el lote de fabricación y la fecha de vencimiento del producto			
c. Cualquier cambio o nuevo diseño en el envasado, envase, presentación o etiquetado, sólo requerirá una notificación a DIGESA, la cual incorporará automáticamente dicho cambio en el Registro.			
d. La vigencia de la presente autorización de inscripción o reinscripción en el Registro Sanitario de Alimentos y Bebidas es de cinco años a partir de la fecha de su expedición.			
e. Esta inscripción esta sujeta a vigilancia y monitoreo sanitario por parte de DIGESA, la cual podrá revocarla.			
f. La empresa está obligada a comunicar por escrito a la DIGESA cualquier cambio o modificación en los datos o condiciones bajo las cuales se otorgó el Registro Sanitario a un producto o grupo de productos, por lo menos siete (7) días hábiles antes de ser efectuada, acompañando los recaudos o información que sustente dicha modificación.			
Lima, 8 de Junio del 2021			
DIGESA Las Amapolas # 350 Urb. San Eugenio, Lince (Lima 14) Lima - Perú	Atención Mesa de Partes: Lunes a Viernes de 7:30 am - 3:30 pm.	Correo Electrónico digesaconsul@minsa.gob.pe	Página Web http://www.digesa.minsa.gob.pe
Teléfonos (511) 631-4430			

ANEXO 6

INFORME DE ENSAYO MICROBIOLÓGICO



INFORME DE ENSAYO Nº SQ210531.02

SOLICITUD DE ENSAYO	: SQE 210520.01
SOLICITANTE	: CASTILLO FERNANDEZ, ROSA MARIA
DIRECCIÓN DEL SOLICITANTE	: Av. Caminos del Inca Nº1163
PROCEDENCIA DE LA MUESTRA	: Proporcionado por el cliente (*)
PROCEDIMIENTO DE MUESTREO	: No aplica
IDENTIFICACIÓN DE LA MUESTRA	: M1: Aceite de orégano
CANTIDAD Y DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA	: Una (01) unidad de 10mL
LUGAR, FECHA Y HORA DE MUESTREO	: No aplica
FECHA Y HORA DE RECEPCIÓN	: 20 de mayo del 2021/ 16:00h
CONDICIONES A LA RECEPCIÓN	: Temperatura ambiente
FECHAS DE INICIO DEL ANÁLISIS	: 23 de mayo del 2021
FECHAS DE TÉRMINO DEL ANÁLISIS	: 26 de mayo del 2021
FECHAS DE EMISIÓN	: 31 de mayo del 2021

RESULTADOS DE ENSAYO MICROBIOLÓGICO: ANTIBIOGRAMA

Nº Replica en placa Petri	Halo de inhibición del <i>Origanum vulgare</i> frente <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 en milímetros (mm) a las 24 horas en agar Sabouraud				
	25%	50%	75%	100%	Nistatina
1	6,7	13,5	18,8	23,1	13
2	7,3	14,7	20,6	25,5	12,5
3	8,6	12,9	19,0	26,1	13,6
4	6,9	13,1	22,1	28,3	12,1
5	7,8	14,8	19,6	26,9	10,8
6	6,5	13,9	18,5	27,2	12,6
7	7,1	12,4	23,1	33,1	11,9
8	7,8	14,1	22,7	26,7	10,3
9	8,2	13,3	20,9	28,5	13,4
10	6,4	12,8	21,5	27,7	12,1
11	8,1	13,9	22,3	29,3	13,7

Nº Replica en placa Petri	Halo de inhibición del <i>Origanum vulgare</i> frente <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 en milímetros (mm) a las 48 horas en agar Sabouraud				
	25%	50%	75%	100%	Nistatina
1	6,8	13,8	19,1	23,4	13,2
2	7,5	15,0	20,9	25,7	12,6
3	8,8	13,2	19,3	26,3	13,8
4	7,1	13,3	22,4	28,5	12,4
5	7,9	15,1	19,8	27,2	11
6	6,7	14,1	18,7	27,4	12,9
7	7,2	12,7	23,2	33,3	12,3
8	8,1	14,3	23,0	26,9	10,6

Los resultados de los ensayos corresponden solo a la(s) muestra(s) ensayada(s). Los resultados no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con normas de producto o como certificado del sistema de calidad de la entidad que lo produce. Queda prohibida la reproducción parcial o total del presente informe, sin la autorización escrita por SCIENTIFIC QUALITY S.A.C., la adulteración o uso indebido del presente informe constituye un delito contra la fe pública y se regula por las disposiciones penales y civiles en la materia.

INFORME DE ENSAYO N° SQ210531.02

9	8,3	13,6	21,1	28,7	13,6
10	6,7	12,9	21,8	27,9	12,3
11	8,2	14,2	22,5	29,6	14

N° Replica en placa Petri	Halo de inhibición del <i>Origanum vulgare</i> frente <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 en milímetros (mm) a las 72 horas en agar Sabouraud				
	25%	50%	75%	100%	Nistatina
1	7,0	14,0	19,4	23,7	13,4
2	7,7	15,3	21,2	26,1	12,8
3	8,9	13,4	19,5	26,6	14,1
4	7,2	13,5	22,7	28,8	12,7
5	8,1	15,4	20,3	27,3	11,2
6	6,8	14,5	19,1	27,8	13,2
7	7,4	12,9	23,4	33,5	12,5
8	8,3	14,7	23,2	27,2	10,7
9	8,4	13,7	21,3	28,9	13,9
10	6,9	13,1	22,1	28,2	12,5
11	8,4	14,4	22,8	29,8	14,2

MÉTODOS DE ENSAYO	
ENSAYOS	NORMA DE REFERENCIA
ANTIBIOGRAMA	Técnica de Kirby-Bauer. Método de disco de difusión en agar.

OBSERVACIONES:

(1): Los resultados se aplican a la muestra tal como se recibió en el laboratorio.



Los resultados de los ensayos corresponden solo a la(s) muestra(s) ensayada(s). Los resultados no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con normas de producto o como certificado del sistema de calidad de la entidad que lo produce. Queda prohibida la reproducción parcial o total del presente informe, sin la autorización escrita por SCIENTIFIC QUALITY S.A.C. la adulteración o uso indebido del presente informe constituye un delito contra la fe pública y se regula por las disposiciones penales y civiles en la materia.

ANEXO 7

CONSTANCIA DE TRATAMIENTO DE RESIDUOS



CONSTANCIA

La empresa SCIENTIFIC QUALITY S.A.C. hace constar que se ha eliminado adecuadamente los residuos biológicos del trabajo de Tesis "EFECTIVIDAD ANTIMICÓTICA DEL ACEITE ESENCIAL ORIGANUM VULGARE SOBRE CÁNDIDA ALBICANS" como indica nuestro Instructivo de Bioseguridad y eliminación de residuos biológicos del Laboratorio de microbiología I01-P10-GL, el cual indica que los materiales de ensayo biocontaminados se dividirán en materiales de vidrio y descartables. Ambos serán colocados, por separado, en bolsas de riesgo biológico y se colocarán en la autoclave para su proceso a 121°C por 30 minutos.

Luego del proceso de autoclavado, los materiales de vidrio se lavarán y pasarán controles de calidad para ser reutilizados. Con respecto al material descartable, al haber sido **minimizado, tratado**, eliminando el **riesgo significativo**; se realiza su **disposición final** como residuo sólido municipal según Ley N° 27314., Ley General de Residuos Sólidos. Título IV. Artículo 27, inciso 2, el cual dice:

"27.2 La prestación de servicios de residuos sólidos por pequeñas y microempresas estará restringida a los residuos del ámbito de la gestión municipal, conforme a las disposiciones reglamentarias que al efecto se dicten para promover su participación".



Lima, 31 de mayo del 2021



[Handwritten Signature]
Mbglo. Oniel Elias Juarez Vilcapuma
Gerente de Laboratorio
C.B.P. 14090

ANEXO 8

FOTOS

1. EQUIPO Y MATERIALES

AUTOCLAVE



REGLA VERNIER



INCUBADORA



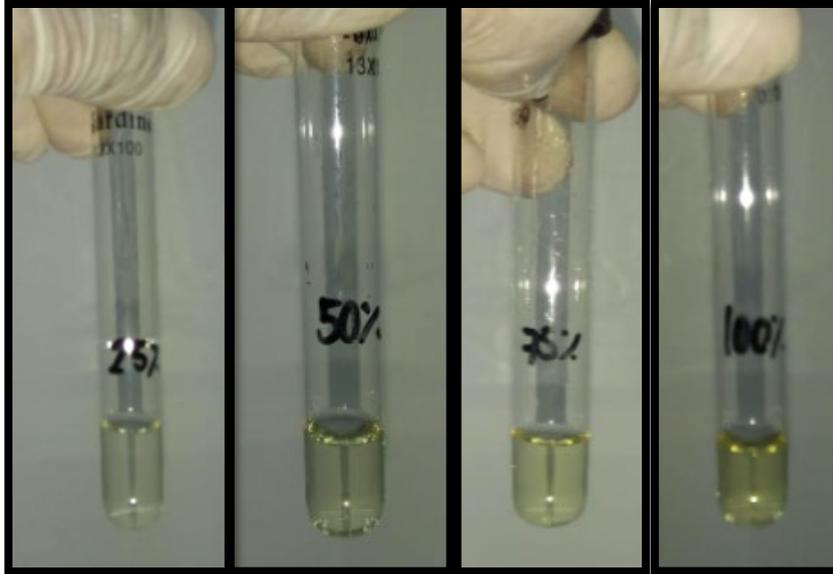
MICROPIPETA



2. AGAR SABOURAUD, ACEITE DE OREGANO Y NISTATINA



3. PREPARACION DE LAS DILUCIONES Y HOMOGENIZADO



4.1 HOMOGENIZACIÓN EN VORTEX DE LAS DILUCIONES



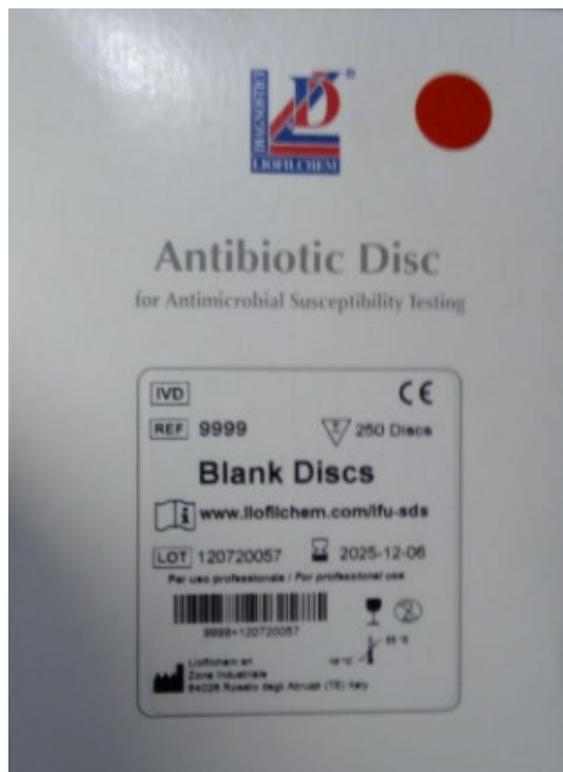
5. PREPARACION DEL AGAR SABORAUD EN PLACAS PETRI



6. COLONIAS AISLADAS DE *CANDIDA ALBICANS* EN PLACA DE AGAR SABOURAUD



7. DISCOS ANTIBIOGRAMA



8. CANDIDA ALBICANS EN PLACAS DE AGAR SABORAUD



Colocación del inculo (0,1ml) de *C. albicans* en placas de agar Saboraud



Diseminación con asa de Drigalsky del inculo *C. albicans* en placas

9. COLOCACIÓN DE LOS DISCOS ANTIBIOGRAMA EN LAS PLACAS DE CANDIDA ALBICANS CON PINZA ESTERIL



10. COLOCACION DE 15µL DE ACEITE ESENCIAL Y NISTATINA EN DISCOS ANTIBIOGRAMA SEGÚN CORRESPONDA



11. INCUBACIÓN DE LAS PLACAS CON C.ALBICANS Y DISCOS ANTIBIOGRMA CON SUSTANCIAS DE PRUEBA.



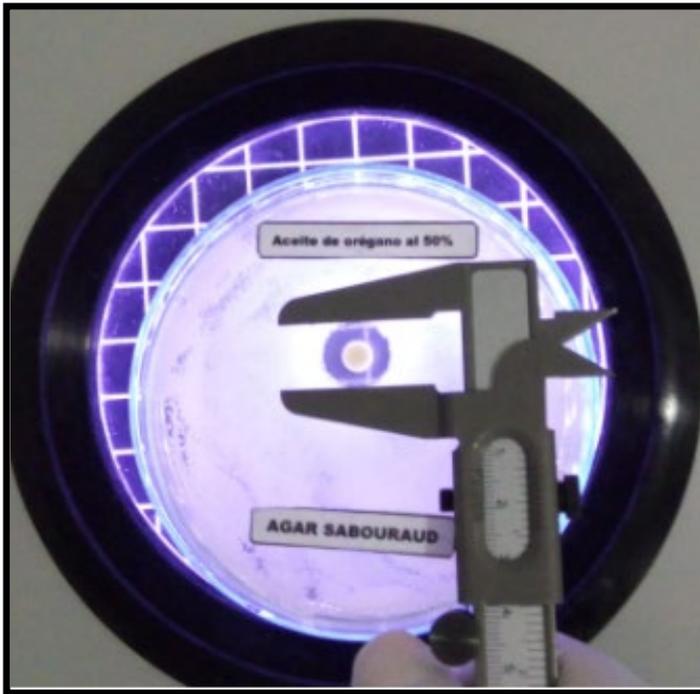
12. RESULTADOS: MEDICIÓN DE HALOS DE INHIBICIÓN EN PLACAS PETRI CON REGLA VERNIER



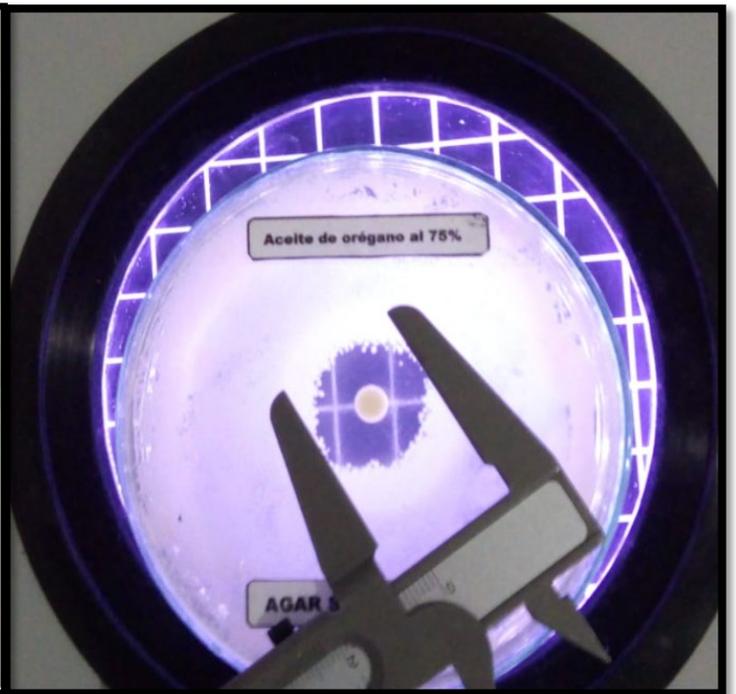
Antibiótico Nistatina a las 72horas



Aceite de orégano al 25 % a las 72horas



Aceite de orégano al 50% a las 72horas

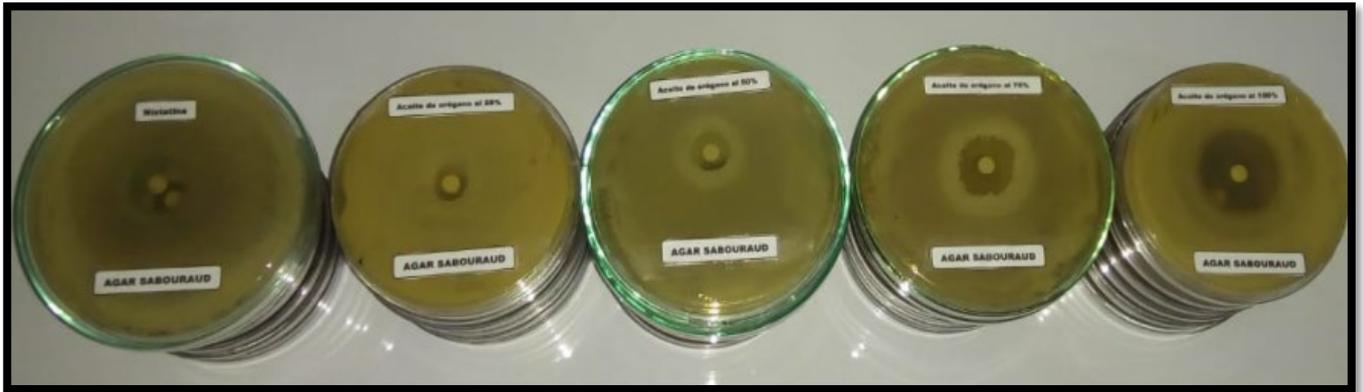


Aceite de orégano al 75% a las 72horas



Aceite de orégano al 100% a las 72horas

13. PLACAS PETRI SEÑALIZADAS CON DILUCIONES DEL 25%, 50%, 75% Y 100% DE ACEITE DE OREGANO.



14. TRATAMIENTO DE MATERIAL CONTAMINADO CON RIESGO BIOLÓGICO. PREPARACIÓN PARA PROCESO DE AUTOCLAVADO

