



UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES
CHIMBOTE

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE ODONTOLOGÍA

**EFECTO ANTIFÚNGICO DEL EXTRACTO
ETANÓLICO DE *Origanum Vulgare* (ORÉGANO)
SOBRE *Candida albicans* ATCC 10231, TRUJILLO - 2018**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
CIRUJANO DENTISTA**

AUTOR:

GARCÍA YBAÑEZ ÁLVARO LEODÁN

ASESOR:

MGTR. VÁSQUEZ PLASENCIA CÉSAR ABRAHAM

TRUJILLO-PERÚ

2019

Título

**EFECTO ANTIFÚNGICO DEL EXTRACTO
ETANÓLICO DE Origanum Vulgare (ORÉGANO)
SOBRE Candida albicans ATCC 10231, TRUJILLO-
2018**

Equipo De Trabajo

INVESTIGADOR PRINCIPAL:

García Ybañez Álvaro Leodán

ASESOR:

Mgr. Vásquez Plasencia César Abraham

Firma del jurado y asesor

Dr. AGUIRRE SIANCAS ELÍAS ERNESTO
PRESIDENTE

Mgtr. MORÓN CABRERA EDWAR RICHARD
MIEMBRO

Mgtr. PAIRAZAMÁN GARCÍA JUAN LUIS
MIEMBRO

Mgtr. VÁSQUEZ PLASENCIA CÉSAR ABRAHAM
ASESOR

Agradecimiento

A Dios por brindarme la oportunidad de ser un profesional, y formar parte del grupo de profesionales que contribuyen a mejorar la salud de las personas.

Muy agradecido con mis padres quienes no escatimaron en esfuerzos para ofrecerme la mejor educación, por todos sus consejos y palabras de cariño que hicieron de mí un hombre motivado y centrado en cumplir con sus metas.

Es también oportuno extender mis agradecimientos al Dr. **Angel Obeso** por su apoyo, motivación y formación durante toda la carrera, a mis docentes quienes compartieron sus conocimientos

Dedicatoria

A mi familia, quienes han sido mi apoyo para concluir mi carrera.

Especialmente dedicado a mis queridos padres **Mario García**

Vejarano y Victoria Ybañez Sánchez quienes con su esfuerzo,

amor y su apoyo me han alentado a ser un buen estudiante,

profesional y ser humano.

A mis hermanos que mediante su apoyo
incondicional y sus consejos, han estado
siempre presentes.

Resumen

El estudio comparó el efecto antifúngico de cuatro concentraciones de extracto etanólico de *Origanum vulgare* sobre cepas de *Candida albicans* ATCC 10231, los extractos etanólicos de la planta se obtuvieron por el método de maceración adquiriendo concentraciones al 25%, 50%, 75%, 100%. Para evaluar la actividad antifúngica se utilizó el método Kirby-Bauer, se procedió a la activación de la cepa y la preparación del inóculo a una turbidez de 0,5 en la escala Mc Farland, la siembra se realizó en 10 cajas Petri con el medio de cultivo Dextrosa Sabouraud a una temperatura de 37°C para luego proceder a la colocación de discos estériles impregnados de las diferentes concentraciones de extracto etanólico al (25%, 50%, 75%, 100%) y nistatina como control positivo; las concentraciones presentaron un promedio de halo de inhibición 9.9mm, 17.9mm, 20.7mm, 22.9mm. Se construyeron tablas para presentar los valores de los halos de inhibición y evaluar la normalidad de su distribución utilizando la prueba estadística de Shapiro Wilk. Por lo tanto se llegó a determinar con los resultados que existe diferencia estadísticamente significativa $p < 0,05$ de promedios entre las diferentes concentraciones. Se concluyó que el extracto etanólico de *Origanum vulgare* al 100% presentó el mayor efecto antifúngico frente a cepas de *Candida albicans* ATCC 10231.

Palabras claves: Extracto, *Origanum vulgare*, *Candida albicans*, Dextrosa Sabouraud, Nistatina.

Abstract

The study compared the antifungal effect of four concentrations of ethanolic extract of *Origanum vulgare* on strains of *Candida albicans* ATCC 10231, Ethanol extracts of the plant were obtained by the maceration method acquiring concentrations at 25%, 50%, 75%, 100% , To evaluate the anti fungal activity this time was the Kirby-Bauer method, we proceeded to the activation of the strain and the preparation of the inoculum to a turbidity of 0.5 on the Mc Farland scale, the planting was done in 10 boxes Petri culture medium Dextrose Sabouraud at a temperature of 37 ° C and then proceed to the placement of sterile discs impregnated with different concentrations of ethanol extract (25% .50%, 75%, 100%) and nystatin as control positive; the concentrations showed an average inhibition halo of 9.9mm, 17.9mm, 20.7mm, 22.9mm. Tables were constructed to present the values of the inhibition zones and to evaluate the normality of their distribution using the statistical test of shapiro wilk. Therefore, it was determined with the results that if there is a statistically significant difference $p < 0.05$ of averages between the different concentrations. It was concluded that the ethanolic extract of *Origanum vulgare* 100% had the highest antifungal effect against strains of *Candida albicans* ATCC 10231.

Keywords: Extract, *Origanum vulgare*, *Candida albicans*, Dextrose Sabouraud, Nystatin.

Índice de contenido

| | |
|---------------------------------------------------------|-----------|
| 1. Título de la tesis..... | ii |
| 2. Equipo de trabajo..... | iii |
| 3. hoja de firma del Jurado y asesor..... | iv |
| 4. Hoja de agradecimiento..... | v |
| 5. Hoja de dedicatoria..... | vi |
| 6. Resumen..... | vii |
| 7. Abstract..... | viii |
| 8. Contenido..... | ix |
| 9. Índice de tablas | x |
| 10. Índice de gráficos..... | xi |
| I. Introducción..... | 1 |
| II. Revisión de literatura..... | 3 |
| III. Hipótesis..... | 15 |
| IV. Metodología..... | 16 |
| 4.1 Diseño de la Investigación..... | 16 |
| 4.2 Población y Muestra..... | 16 |
| 4.3 Definición y operacionalización de variables..... | 17 |
| 4.4 Técnicas e Instrumento de recolección de datos..... | 19 |
| 4.5 Plan de Análisis..... | 22 |
| 4.6 Matriz de consistencia..... | 23 |
| 4.7 Principios Éticos..... | 24 |
| V. Resultados..... | 25 |
| 5.1 Resultados..... | 25 |
| 5.2 Análisis de Resultados..... | 28 |
| VI. Conclusiones..... | 30 |
| Aspectos Complementarios..... | 30 |
| Referencias Bibliográficas..... | 31 |
| Anexos..... | 35 |

Índice de tablas

TABLA 1: Comparación de valores individuales del Tamaño de los halos de inhibición (en mm) según grupo de tratamiento de extracto etanólico de *Origanum vulgare* (orégano) sobre sepas de *Candida albicans* ATCC 10231.....25

TABLA 2: Comparación el efecto anti fúngico de cuatro concentraciones de extracto etanólico de *Origanum vulgare* (orégano) y grupo control sobre sepas de *Candida albicans* ATCC 10231.....26

TABLA 3: Comparación del efecto anti fúngico de cuatro concentraciones de extracto etanólico de *Origanum vulgare* (orégano) y grupo control sobre sepas de *Candida albicans* ATCC 10231 según grupo de tratamiento27

Índice de gráficos

| | |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Gráfico 1: Efecto antifúngico del extracto etanolico del <i>Origanum vulgare</i> sobre <i>Candida albicans</i> en las diferentes concentraciones..... | 40 |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|

I. Introducción

El uso del orégano como parte de la medicina popular se ha venido utilizando desde hace un buen tiempo con bastante éxito y efectividad, para la prevención y mejoría en los tratamientos de varias patologías de la cavidad bucal, lo que ha despertado la curiosidad de iniciar estudios y darle validez científica a esta alternativa.¹

La especie de *Candida albicans* es un agente patógeno de infecciones oportunistas comunes que se presentan en la cavidad bucal muy trascendental el patógeno fúngico para los seres humanos tanto para su importancia clínica como para llevar a cabo estudios de investigación científica. Para el tratamiento de la candidiasis en el campo de la medicina convencional es a base de antimicóticos en las diferentes formas farmacéuticas y el empleo de los fitofármacos puede encontrarse opciones útiles de la medicina convencional y natural.¹

Hallar un efecto anti fúngico del *Origanum vulgare* (Orégano) sobre *Candida albicans* nos daría una alternativa basada en principios activos que tienen procedencia de las plantas naturales medicinales usualmente son fáciles de recaudar y son abundantes en este país, podría elaborarse antisépticos para microorganismos como la *Candida albicans*.¹

Existe la necesidad de brindar a la población alternativas para solucionar la presencia de enfermedades cuyos microorganismos están alojados en los cavidad oral de los individuos, utilizando nuestra riqueza natural específicamente plantas , podría elaborarse antisépticos para microorganismos como la *Candida albicans*.²

Mediante esta investigación se tiene el propósito de evaluar el efecto antifúngico del extracto etanólico de *Origanum vulgare* (orégano) sobre *Candida albicans*; lo

cual aportaría en la investigación para la producción de fármacos anti fúngicos, permitiendo la erradicación efectiva del hongo y mejorando a gran cantidad los grandes beneficios terapéuticos. ²

Se hizo un estudio transversal experimental para encontrar la sensibilidad del hongo en los diferentes concentraciones del extracto de *Origanum vulgare*, dicho estudio consiste en analizar los diferentes grupos de concentraciones en un tiempo determinado y obtener el grado de sensibilidad frente a cepas de *Candida albicans* ³

Para evaluar la actividad anti fúngica se usó el método Kirby-Bauer, la siembra se realizó en 10 cajas Petri, luego se procedió a la colocación de discos estériles impregnados de las diferentes concentraciones de extracto etanólico al (25%, 50%, 75%, 100%) y nistatina como control positivo; las concentraciones de halo de inhibición fueron 9.9mm, 17.9mm, 20.7mm, 22.9mm. Se concluyó que el extracto etanólico de *Origanum vulgare* al 100% presentó el mayor efecto antifúngico frente a cepas de *candida albicans* ATCC 10231.

La universidad y el investigador cuentan con la infraestructura, recursos materiales y humanos, para poder realizar la ejecución del presente proyecto.

II. Revisión literaria

2.1 Antecedentes:

Paredes M.³ (Ecuador, 2017) **“Efectividad inhibitoria del aceite esencial de orégano de pastaza y santo domingo de los tsáchilas al 100% de concentración sobre láminas de acrílico inoculadas con Candida albicans”** Evaluar el efecto inhibitorio del aceite esencial de orégano de Pastaza al 100% de concentración, aplicando 0.3mL y 0.5mL sobre Candida albicans extraído con el método de arrastre de vapor de agua; estas muestras correspondieron a 14 láminas de acrílico de termocurado inoculadas previamente con Candida albicans. Se utilizó 0.3mL y 0.5mL de aceite esencial de orégano de ambas regiones, para evaluar el efecto inhibitorio frente a Nistatina como control positivo y como control cero se utilizó H₂O. Al proceder al conteo celular con cámara de Neubauer a diferentes horas, se obtuvo curvas de crecimiento, donde se logra observar que los aceites ofrecen un mejor efecto inhibitorio en comparación a la Nistatina; y al enfrentar los resultados de ambos aceites de orégano, se determinó que al aplicar 0.3mL y 0.5mL de aceite esencial de orégano de Santo Domingo de los Tsáchilas hay menor crecimiento de levaduras de Candida albicans.

Palacios E.⁴ (Ecuador, 2017) **“Efectividad antimicótica del aceite esencial de Orégano de las provincias de Chimborazo y santa Elena al 100% de concentración sobre Candida albicans”**; El objetivo fue identificar la efectividad antimicótica de los aceites esenciales, las cepas que han sido inoculadas en láminas de acrílico, para lo cual el control fue Nistatina. Se tomó como muestras 14 láminas de acrílico inoculadas con la cepa de Candida albicans, se procedió a evaluar la efectividad antimicótica del aceite esencial de orégano con su concentración al 100% utilizando volúmenes de 0.3 y 0.5ml sobre Candida albicans inoculadas en láminas de acrílico y sumergidas en agua, mediante contaje celular a través de la cámara de Neubauer; midiendo en cuatro tiempos diferentes: inicial, a las 12 horas, 24 horas y 48 horas, el resultado se evidenció que los aceites esenciales de orégano

tanto de Chimborazo como de Santa Elena ofrecen un efecto antimicótico frente a *Candida albicans*.

Colpa M.⁵ (Perú, 2016) “**Efecto inhibidor del aceite esencial de *Origanum vulgare* y *Mentha piperita* en comparación a la nistatina frente a cepas de *Candida albicans*”;**

Su objetivo fue determinar el efecto inhibidor del aceite esencial de *Origanum vulgare* y *Mentha piperita* en comparación a la nistatina frente a cepas de *Candida albicans* , Se prepararon 80 placas Petri con Agar Sabouraud y se inocularon las cepas de *Cándida albicans*; se dividió en 2 partes de 40 placas para el *Origanum vulgare* y 40 para *Mentha piperita* , se colocaron 4 pozos con las concentraciones (25%, 50%, 75% y 100), 1 pozo de control negativo con agua destilada y 1 pozo de control positivo con Nistatina para cada placa, haciendo un total de 6 pozos por placa Petri; las placas fueron incubadas a 37°C y se midieron los halos de inhibición generados a las 24 y 48 horas. Los datos se procesaron con la prueba estadística de comparación de medias para muestras independientes; con lo que se concluye que el *Origanum vulgare* presenta un halo de inhibición a las 24 y 48 horas de 45.73mm y 46.35mm respectivamente, mayor que la Nistatina de 17.83mm y 18.20mm respectivamente; y con la *Mentha piperita* de 18.85mm y 19.88mm, muy cercano al de la Nistatina de 19.60mm y 20.30mm.

Quintanilla J.⁶ (Perú, 2016) “**Efecto anti fúngico in vitro del extracto de aceite de orégano, carvacrol, sobre cepas de *Candida albicans*”**”, tuvo como objetivo determinar el efecto antibacteriano in vitro del extracto de aceite de orégano, carvacrol, sobre cepas de *Candida albicans*, Se preparó el extracto de aceite de orégano, carvacrol, al 0,1 % in vitro, empleando el método de Kirby Bauer (difusión en disco) y la determinación de la concentración mínima inhibitoria. Para la evaluación, se expuso la *Candida albicans* a cuatro concentraciones del extracto de aceite de orégano (25%, 50%, 75%, 100%). Asimismo, se consideró un grupo control con fluconazol, realizando diez repeticiones en cada caso. Se determinó que existe diferencia estadísticamente significativa entre el efecto antifúngico de las diferentes concentraciones de extracto de aceite de orégano sobre *Candida albicans* y fue

sensible a las cuatro concentraciones al 25% promedio de 8.43 mm, en 50% un promedio de 11.84 mm, 75% un promedio de 13.67 mm, 100% un promedio de 21.91mm los halos de inhibición según la escala de Durafourd. La concentración mínima inhibitoria para la acción antifúngica fue de 100 %, (1000 mg/ml. Se concluye que el extracto de aceite de orégano, carvacrol, al 100 % tiene un efecto antibacteriano in vitro contra *Candida albicans*.

Villavicencio J.⁷ (Perú, 2016) **“Efecto Antimicótico in vitro de *Origanum vulgare* sobre cepas de *Candida albicans*”** El objetivo fue evaluar el efecto antimicótico in vitro de aceite esencial de *Origanum vulgare*, sobre cepa de *Candida albicans* ATCC 10231, como una alternativa farmacológica para prevenir y tratar enfermedades de la cavidad oral. Metodología: Se efectuó la recolección de cuatro especies de orégano: *Origanum x intercedens* (chinito) *Origanum x majoricum* (nigra), *Origanum vulgare* L (Jauja) y *Origanum vulgare* L (Tacna). Se obtuvo los aceites esenciales mediante proceso de destilación por arrastre con vapor de agua. Se comprobó in vitro el efecto antimicótico de los aceites esenciales mediante pruebas de sensibilidad con el método de difusión en cultivo de agar frente a *Candida albicans* y se comparó con Miconazol (gel oral 20 mg/g) y Clorhexidina (colutorio 0,12%). Resultados: Los aceites esenciales de orégano de las cuatro especies estudiadas mostraron su efecto antimicótico, en diferentes concentraciones, y mostraron diferencias significativas frente al Miconazol y Clorhexidina. Se llegó a la conclusión que el aceite esencial de *Origanum vulgare* puede ser una alternativa farmacológica para el tratamiento de enfermedades de la cavidad oral.

Chamba L.⁸ (Ecuador, 2015) **“Efecto antifúngico de extracto etanólico del *Origanum vulgare* (orégano) y *cymbopogon citratus* (hierba luisa), sobre cepas de *Candida albicans* en comparación con la nistatina estudio invitro”**; estudio que propone como objetivo principal evaluar la actividad antifúngica de los aceites esenciales de Orégano y Hierba Luisa sobre cepas de *C. albicans* en comparación con

la nistatina estudio invitro y así establecer el nivel de capacidad inhibitoria, el aceite esencial se obtuvo por medio de la técnica de arrastre a vapor de agua en diferentes concentraciones., la siembra se realizó en 19 cajas Petric con el medio de cultivo Dextrosa Sabouraud a una temperatura de 37°C para luego proceder a la colocación de discos estériles impregnados de las diferentes concentraciones de aceites esenciales (25%, 50%, 75%, 100%) y nistatina como control positivo Se incubó en un tiempo 72 horas y después se procedió a realizar la medida de los halos con una regla milimétrica conocida como pie de rey. el aceite esencial de orégano se encontró diferencias relevantes significativas en relación al control positivo, presentando como resultados el 25% 12.4 mm, 50% 12.0mm,75% 15.4mm, 100% 18.0mm. se concluye que tiene efectividad antifúngica en el control de cepas *Candida albicans*.

Maravi G.⁹ (Perú, 2012) **“Efecto antibacteriano y antifúngico del aceite esencial de *Mentha piperita* (menta), *Origanum vulgare* (orégano) y *Cymbopogon citratus* (hierba luisa) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, 10746 y *Candida albicans* ATCC 10231”**, El objetivo de la presente investigación fue determinar el efecto antibacteriano y antifúngico in vitro del aceite esencial de *Mentha piperita* (menta), *Origanum vulgare* (orégano) y *Candida albicans* ATCC 90028, se realizó por medio de difusión en agar con disco. Para proceder a realizar el análisis microbiológico, se procedió a utilizar el aceite esencial Orégano al 50 y 100%, para obtener estas concentraciones se diluyeron en agua destilada y dimetilsulfóxido. El aceite esencial, fue comparado con un medicamento anti fúngico (nistatina) para control positivo (de los hongos) y para controles negativos tuvo que utilizar agua destilada. Al proceder y realizar las diferentes pruebas para determinar la sensibilidad in vitro se obtuvo como resultados que el aceite esencial de orégano en la concentración de 100 % arrojó sus resultados a un promedio de halos de $56,25 \pm 3,40$ mm , como también el aceite esencial de orégano al 50 %, de $23,67 \pm 1,94$ mm; con ello se llegó a la conclusión que el aceite esencial de Orégano tuvo una mayor efectividad anti fúngica que la Nistatina juntamente con la Clorhexidina al 0.12% que se usaron como controles.

2.2 Marco Teórico

2.2.1 Hongos

Los hongos son microorganismos que lo podemos encontrar bastante esparcidos en toda nuestra naturaleza. Uno de los más importantes es de género *Candida* puede colonizarse y llegar a ser parte importante de la microbiota normal o también residente del hospedero humano presentándose como microorganismos comensales. Entre los diferentes ecosistemas presentes del ser humano y cuando se presentan dentro de éste, es principalmente para generar daño.¹⁰

Entre los factores más sobresaliente que pueden originar una infección generada por hongos en la boca se encuentran: desequilibrios en la microbiota local por tratamiento con antimicrobianos, lo que conlleva a una disminución drástica a la pérdida de la flora bacteriana competidora presente en boca, disfunción de las diferentes glándulas salivales, lo cual disminuye la producción y flujo de la saliva generando por consecuente xerostomía en la cavidad oral, el hábito de fumar, desnutrición (leucemia, linfoma, tumores sólidos), tratamientos y terapias contra el cáncer (quimioterapia, radiación de cabeza y cuello), trastornos endocrinológicos (diabetes, hipotiroidismo, embarazo, hipoadrenalismo), cambios de la inmunidad local (disminución de la producción de sustancias antifúngicas de origen salival como histatinas) y alteraciones de la inmunidad sistémica (Infección por el Virus de Inmunodeficiencia Humana "VIH", trastornos de la inmunidad mediada por células tales como alteraciones de la función de linfocitos T, terapias inmunosupresoras mediante el empleo de ciclosporinas y esteroides tópicos y sistémicos). Todos estos factores, bien sea individualmente o en conjunto, conllevan a brindar las condiciones que permitan abonar el terreno necesario para el incremento de la adherencia a los tejidos por parte de estos microorganismos como paso esencial para la producción de daño tisular con la consiguiente aparición de signos y síntomas específicos.¹⁰

Infecciones oportunistas

Estas infecciones producidas por hongos que se presentan habitualmente son procesos infecciosos invasivos que generalmente son producidos por gérmenes no patógenos que se logran aparecer en estados de baja inmunidad; siendo los más frecuentes *Pneumocystis jirovecii*, *Aspergillus spp*, *Cándida spp*. La *Cándida Albicans* es la principal causa más frecuente de infecciones fúngicas en los pacientes con problemas de inmunodeficiencia, provocando el desarrollo de infecciones que producen trastornos mucocutáneos hasta enfermedades invasivas. Frecuente también en pacientes inmunocompetentes en edades extremas de la vida como lactantes y ancianos, además de gestantes. ¹¹

2.2.2 Candidiasis

Definición de candidiasis

Es un conjunto de infecciones micóticas de la cavidad oral más frecuente que aparece en pequeñas manchas de color blanquecino rosado, por la comisura de los labios, encima de la lengua y encía, se presenta en ocasiones asintomática o con ardor, dolor y mal sabor de boca ¹²

Etiopatogenia de la candidiasis

Son infecciones causadas por agentes patógenos e un hongo saprofítico del género *Cándida*. Más del 50% los individuos aparentemente en buen estado de salud alojan a las cepas de *Candida* como un elemento normal que forma parte de su micro flora de la cavidad oral, sólo una comunidad distinguida expone evidencia clínica de su patogenicidad. La cepa predominante en el crecimiento de infecciones orales es la *Candida albicans*, lo encontramos aislada en el 80% de las lesiones por *Cándida*. La prevalencia que se reporta es un rango promedio del 3% al 70% en las bocas clínicas en buen estado de salud, y mayormente en niños, jóvenes y pacientes con el sistema inmune deprimido. ¹²

Candida albicans

pertenece a la familia Cryptococcaceae es dimórfica que depende mucho del tipo de condiciones que presente el medio ambiente, puede existir como dos fases principales: fase de levadura (blastoespora) siendo una célula oval de 2 a 4 μm de diámetro con sus paredes finas, y fase de hifa o filamentosa, se trata de estructuras microscópicas tubulares de 3 a 4 μm de diámetro, que contiene múltiples unidades celulares que están divididas por septos que pueden surgir a partir de las blastoesporas o de las hifas pre-existentes.¹²

En el género Cándida hay muchas especies que pueden causar Candidiasis, estas son flora normal en el hombre, ya que se encuentran en la piel, mucosas y el aparato gastrointestinal; pueden colonizar al hombre poco después del nacimiento aunque hay registros de que también en el periodo de gestación se puede presentar la infección por este género. Las Candidiasis son las micosis sistémicas en el hombre y los agentes más comunes involucrados en la infección son: *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. Glabrata*, *C. guilliermondii* y *C. dubliniensis*.¹³

Se han encontrado múltiples mecanismos que permiten la adherencia por parte de *Candida albicans* a las células epiteliales de la cavidad oral, entre estos: a través de la Proteínasa Ácido-Carboxílica, por intermedio de la capa de fibrillas que se encuentra unida a la capa externa de nanoproteínas (proteínas unidas a un residuo de manosa) de la pared celular, ya que esta capa posee numerosas adhesinas que permiten que el hongo se adhiera a diversos ligandos del hospedero, a través de residuos de Fucosil localizados en la superficie de la célula hospedera, por intermedio de las glicoproteínas de la pared celular del microorganismo, que permiten su unión al Colágeno Tipo I y a través de la fibronectina y las Proteínasa ácidas que permiten que esta especie se una a la superficie del epitelio.²²

Aspectos generales

Su fisonomía de las diferentes especies que encontramos de Cándida son similares, son Gram positivas y son más de 150 las especies de levaduras, su tamaño

aproximadamente al observar son de 2 a 4 micrómetros y con sus paredes muy finas. Son células con una forma alargada que permanecen juntas.¹³

Hábitat

Esta especie de *Cándida* se encuentra y coloniza en el individuo, como también en animales que presentan sangre con regulación térmica aumentada, lo encontramos en un hábitat normal, por lo general su origen de colonización prolifera en el ducto digestivo y propagándose desde la boca hasta terminar en el recto.¹³

Poder patógeno

La especie *Candida albicans* al inicio no se presenta como patógena, por la presencia del sistema inmune y la flora bacteriana que limitan su rápido crecimiento y detienen su proliferación, llegando a mantener un equilibrio. Si hay una alteración de este, procede a proliferar y da inicio al grupo de patologías que se denomina candidiasis. Puede presentar como leves infecciones en mucosa y piel o desarrollar a nivel sistémico, afectando órganos de vital importancia.¹⁴

La fitoterapia

Realiza el estudio de los múltiples productos que tienen un principio vegetal para un fin terapéutico, para prevenir o curar un estado patológico.

Desde épocas primitivas ya se utilizaban las plantas como alternativa de los tratamientos e las enfermedades que se presentaban, la mayoría de las plantas presentan muchos efectos fisiológicos por su principio activo.¹⁴

2.2.3 Plantas medicinales

Son aquellas plantas que en uno o más de sus partes tienen sustancias que nos pueden ser utilizadas con un fin terapéutico o es un agente precursor de la síntesis química – farmacéutica. La etnobotánica nos da a entender el conocimiento botánico de las

diferentes plantas que se encuentran en las comunidades indígenas. Las cuales comprenden un vínculo estrecho de las distintas plantas y su uso de los individuos¹⁵

Hoy en día es de gran utilidad el uso de las plantas, de ellas podemos conseguir muchas sustancias de procedencia química; ahora se logró encontrar plantas que poseen variedad de composición química, anti fúngicos, principalmente antibacterianos. Y podemos utilizarlo con mucha eficacia en el campo estomatológico.¹⁵

Morfología de la planta de orégano

Es un arbusto pequeño de unos 45-50 cm.de alto, sus tallos, que generalmente presentan una tonalidad rojiza, se ramifican en su parte superior y tienden a deshojarse en las partes más inferiores. Las hojas crecen opuestas, ovaladas y anchas de entre 2-5 cm, con bordes enteros. Las pequeñas flores, de color blanco o rosa, que nacen en apretadas inflorescencias terminales muy ramificadas están protegidas por diminutas hojillas de color rojizo.¹⁶

Toda la planta presenta unas pequeñas glándulas donde está acumulada toda su esencia aromática, con un color amarillo, compuesto por un estearopteno y dos tipos de fenoles, como mayoritario el carvacrol y en menorproporción el timol. Las raíces contienen estaquiosa y los tallos sustancias tánicas.¹⁶

Propiedades medicinales del Orégano (*Origanum vulgare*)

El orégano es utilizado generalmente para malestares a nivel digestivo por ejemplo cuando hay presencia de flatulencia, espasmos o cólicos de los órganos digestivos. Por su acción carminativa es un buen condimento para legumbres, potajes y pizzas.

Afecciones respiratorias que cursan tos seca o irritativa, como la laringitis. El orégano tiene también acción expectorante y antitusígena, tanto como en uso interno

y como externo. Dolores musculares, tortícolis y lumbago, aplicando externamente tanto en cataplasma como en fricciones sobre la piel ¹⁷

Composición química del Orégano (*Origanum vulgare*)

Encontramos diversos estudios que brindan información sobre la composición química del orégano, usando extractos de presentación acuosa y sus aceites esenciales. También se logró identificar flavonoides como la apigenina y la luteolina, agliconas, alcoholes alifáticos, compuestos terpénicos y derivados del fenilpropano. En *O. vulgare* se encontró la presencia de ácidos coumárico, ferúlico, caféico, *r*-hidroxibenzóico y vainillínico. Los ácidos ferúlico, caféico, *r*-hidroxibenzóico y vainillínico están presentes en *O. onites*. Los aceites esenciales de especies de *Lippia* contienen limoneno, *b*-cariofileno, *r*-cimeno, canfor, linalol, *a*-pineno y timol, los cuales pueden variar de acuerdo al quimiotipo. En extractos metanólicos de hojas de *L. graveolens* se han encontrado siete iridoides minoritarios conocidos como loganina, secologanina, secoxiloganina, dimetilsecologanosido, ácido logánico, ácido 8-epogánico y carioptosido; y tres iridoides mayoritarios como el ácido carioptosídico y sus derivados 6'-*O*-*p*-coumaroil y 6'-*O*-cafeoil. También contiene flavonoides como naringenina y pinocembrina, lapachenol e icterogenina. ¹⁷

***Origanum vulgare* (orégano)**

Clasificación Botánica

Género: *Origanum*

Familia: Labiatae

Clase: Dicotyledones

Características

El orégano es de género *Origanum*, de la familia *Labiatae* que en su grupo encontramos plantas matosas, herbáceas, que tienen origen en los países mediterráneos. Su crecimiento es espontáneo en lugares áridos generalmente soleados aproximadamente hasta 2000 m.s.n.m; en estos lugares se cultiva como planta aromática y principalmente por sus grandes propiedades terapéuticas¹⁸

Hábitat y distribución

Origanum vulgare es procedente del Mediterráneo, también hay evidencia de ser cultivado en los continentes europeos, Asiáticos y América del Sur. El productor más grande de orégano es el país chileno, lo siguen Perú, Bolivia, Argentina. ¹⁸

Usos

El orégano se usa como condimento en los alimentos de consumo, pero también tiene su uso en la elaboración de fármacos, licores y cosméticos. Se recomienda utilizar en decocción, infusión y preparaciones farmacológicas como jarabe y esencia. Se emplea como excitante, desinfectante, expectorante, antiespasmódico, antiinflamatorio, diurético, tónico, digestivo, estomáquico, vulnerario, emoliente. La planta entera fresca, machacada, aplicada en cataplasma o compresas, es usada como resolutive, para aliviar las inflamaciones de los ganglios y para aliviar las picaduras de insectos, escorpiones y otros animales ponzoñosos. Sujetadas en la frente calman el dolor de cabeza. La decocción de toda la planta se usa como antidiabético, carminativo y en el tratamiento de la hipertrofia hepática y la obstrucción pulmonar; así como las alergias, erupciones cutáneas y dolor de oído. ¹⁸

Principios activos y sus propiedades.

Origanum vulgare presenta propiedades antisépticas, antioxidantes, antiespasmódicos, anti fúngicas y ante todo sobresale por la gran acción de sus principios activos de carvacrol y también del timol que ofrecen a esta planta medicinal su poder anti fúngico.¹⁷

La acción biológica mediante compuestos a base de timol y carvacrol” actúan atacando la membrana plasmática de la bacteria, realizando cambios en su estructura, alterando su funcionamiento, juntamente a ello el timol actúa con gran intensidad inhibiendo la adhesión bacteriana.¹⁸

2.2.4 Nistatina

Es un macrólido poliénico tópico análogo a la anfotericina B y con un mecanismo de acción similar a ella, pero con un perfil de toxicidad que impide su administración por vía parenteral. La nistatina es activa contra la mayoría de las especies Cándida.¹⁹

Mecanismo de acción de la Nistatina

La nistatina se une de manera irreversible a los esteroides de membrana presentes en las especies susceptibles de candida. Las moléculas de polienos presentan mayor afinidad por los esteroides fúngicos, incluyendo el ergosterol, que por los esteroides humanos, lo que permite una toxicidad selectiva relativa. Esta unión irreversible altera la permeabilidad de la membrana y posibilita la salida de componentes intracelulares esenciales y, como consecuencia, la muerte celular. En bajas concentraciones la nistatina es fungistática, mientras que en concentraciones más elevadas tiene actividad antifúngica.¹⁹

Indicaciones de la Nistatina

La nistatina tópica se utiliza para el tratamiento de la candidiasis mucocutánea producida por Candida Albicans y otras especies susceptibles como C. parapsilosis, C. Krusei y C. tropicalis. Numerosos estudios han demostrado que los imidazoles tópicos son más efectivos que la nistatina para el tratamiento de la candidiasis

vulvovaginal, por lo que la utilización de nistatina para el tratamiento de dicha infección ha disminuido en los últimos años. La nistatina no es efectiva contra los dermatofitos ¹⁹

Posología de la Nistatina

Tiene presentación en polvo, presentación en crema, en suspensión y tabletas. Para tratar la candidiasis oral usamos el medicamento en 2 formas el de tabletas o suspensión por 5 veces al día por 2 semanas¹⁹

Riesgos y precauciones del uso de la Nistatina

Los riesgos que se pueden presentar son los mismos que se aplican a todo tipo de medicamentos tópicos. Hay reportes de algunos casos de dermatitis de contacto de tipo alergia se han presentado cuadros de anafilaxia con la utilización de supositorios vaginales que contenían nistatina, si bien la reacción se atribuyó a los materiales más que a la nistatina. ¹⁹

Agar Sabouraud

El agar Sabouraud es un medio de cultivo por sus características que presenta es un enriquecimiento para el uso en hongos y si contiene clorafenicol u otro medicamento, se convierte en otro medio de selección para los mismos. Este medio presenta peptonas y una gran concentración de glucosa que beneficia el aumento y crecimiento de los hongos frente a las bacterias.²³

III. Hipótesis

El extracto etanólico de *Origanum vulgare*(orégano) al 100% tiene mayor efecto antifúngico que las concentraciones al 25%, 50%, 75% sobre cepas de *Candida albicans* ATCC 10231.

IV. Metodología

V. Diseño de la investigación:

Experimental: porque se basa en la manipulación de la variable independiente y su efecto sobre la variable dependiente²⁴, dando validez experimental a este estudio que manipulo las concentraciones de Orégano.²⁴

Prospectivo: la información se va registrando en la medida que va ocurriendo el fenómeno²⁴. En el estudio se midieron la variable dependiente cuando se inició el estudio.²⁴

Transversal: se realizó observaciones en un momento único en el tiempo dentro del estudio²⁴. Él estudio midió el efecto antibacteriano a las 48 horas.²⁴

Analítico: Es el análisis de los datos adquiridos en el estudio.²⁴

4.2 Población y muestra:

4.2.1 Población:

La presente investigación estuvo constituida por cepas de *Candida albicans* ATCC 10231

4.2.2 Muestra:

10 placas de agar con cepas de *Candida albicans* ATCC 10231.

Como se trata de un trabajo de procedimiento experimental, se procedió a usar la formula estadística para obtener el cálculo del total de repeticiones que se va necesitar para la validez el diseño experimental:

$$n = \frac{(Z_{\alpha/2} + Z_{\beta})^2 * 2\sigma_{\delta}^2}{\delta^2}$$

Dónde: $Z_{(d/2)} = 1.96$; que representa un coeficiente de confianza del 95%

$Z_{\beta} = 0.84$; representa un coeficiente en la distribución normal para una potencia de prueba del 80%

$\sigma_{\delta}^2 = 0.82$ valor asumido por no haber información previa completa de estudios similares.

Luego Reemplazando: $n = 10$

Con estos datos reemplazando la ecuación propuesta, se determinó una muestra de 10 observaciones para cada concentración de extracto etanólico de *Origanum vulgare*(orégano)

4.2.3 Criterios de selección

4.2.3.1 Criterios de inclusión:

Placas de *Candida albicans* ATCC 10231

4.2.3.2 Criterios de exclusión:

Placas con halos de inhibición no claro

Placas de *Candida* con signos de Contaminación

Placas de *Candida* obsoleta de restablecerse en el medio de cultivo.

4.3 Definición y operacionalización de variables

Variable Independiente:

- Extracto etanólico de *Origanum vulgare* (orégano)

Variable Dependiente:

Efecto anti fúngico de extracto etanólico de *Origanum vulgare*(orégano) sobre *Candida albicans* ATCC 10321

Tabla de operacionalización de variables

| Variable independiente | Definiciones conceptuales | Definición operacional | Indicador | Valores y Categorías | Tipo de variable | Escala |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------|-----------------|
| extracto etanólico <i>Origanum vulgare</i> (orégano) | Sustancia concentrada que es obtenida a partir de la maceración del orégano. | Dilución del extracto etanólico de <i>Origanum vulgare</i> (orégano) en 1000ml de etanol de 90° cubriendo las hojas y se mantendrá en reposo | Extracto etanólico de diferentes concentraciones. | Extracto etanólico del <i>Origanum vulgare</i> 100% 75% 50% 25% | Cualitativo | ordinal |
| Variable dependiente Efecto anti fúngico del extracto etanólico <i>Origanum vulgare</i> (orégano) sobre candida albicans | Es la capacidad para evitar la reproducción o producir la muerte de la bacteria en condiciones experimentales | El efecto anti fúngico Sobre <i>C. albicans</i> de <i>Origanum vulgare</i> (orégano) ,estará determinado luego de medir los halos de inhibición expresados en mm | Medida del halo de inhibición formado alrededor del disco | mm | Cuantitativa | De razón |

4.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos:

4.4.1. Técnica: observación microbiológica

4.4.2. Instrumento:

Para medir el efecto antifungico se utilizó un Vernier Digital Marca Mitutoyo – Modelo 500-196-20 ABSOLUTE Digimatic Caliper 0-150mm / 0-6”, por estar calibrado y validado con ISO de calidad 17025. (Anexo 1)

Ficha de Recolección de datos. (Anexo 2)

4.4.3. Procedimientos:

Protocolo de experimentación

La obtención del extracto etanólico *Origanum vulgare*(orégano) se realizó en el laboratorio de la Universidad Nacional de Trujillo.

De la recolección e identificación taxonómica de la especie vegetal

Se recolectó 3 kg de las hojas de *Origanum vulgare* (orégano) del distrito de Sinsicap provincia de Otuzco, región La Libertad. Luego un ejemplar de la especie vegetal se llevó al Herbarium Truxillense para su identificación taxonómica (Anexo 03).

De la preparación de la muestra vegetal de las hojas de orégano

Selección: se recolectó las hojas de *Origanum vulgare* y estas fueron transportadas al laboratorio de Farmacognosia de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de Trujillo, donde se seleccionó las hojas que estén en buenas condiciones, que no tengan ataques de hongos, ni estén decoloradas y marchitadas.¹¹

Lavado y desinfección: Se lavó las hojas con agua destilada y luego se desinfectó con hipoclorito de sodio al 0.5%.

- **Secado:** Las hojas fueron colocadas en papel Kraft, que se llevó a secar a la estufa de circulación de aire por convección forzada (40 °C) por 48 horas.
- **Pulverización:** Las hojas una vez secadas fueron pulverizadas con ayuda de un mortero. ¹¹
- **Tamizaje:** Luego las hojas pulverizadas, fueron tamizadas a través del tamiz N° 0.75.
- **Almacenamiento:** El polvo de las hojas fueron guardados en un frasco de vidrio de color ámbar de boca ancha. ¹¹

De la preparación del extracto etanólico de las hojas de *Origanum vulgare*

- Se pesó con exactitud 250 gr de polvo de *Origanum vulgare* previamente tamizadas. Luego se colocaron en un frasco de vidrio de color ámbar de boca ancha, de capacidad de 1 litro y se añadió etanol al 96° G.L. cantidad suficiente hasta cubrir la muestra por sobre 2 cm de altura. Se mezclaron bien, teniendo en cuenta que la mezcla debe ocupar como máximo las $\frac{3}{4}$ partes del recipiente. Se tapó el recipiente y se maceró por 7 días, agitándose 15 minutos, dos veces al día. ¹¹ (Anexo 04)

Análisis microbiológico

Para concretar el análisis de la actividad antifúngica fue el método Kirby-Bauer, el procedimiento fue emplear discos de papel filtro de 6 mm , impregnados con:

Extracto etanólico de *Origanum vulgare* (Orégano) al 25, 50, 75 y 100% , Como control positivo se utilizó: Nistatina .¹²

Preparación del inóculo de *Candida albicans*

Se preparó los inóculos tomando con un asa de Kohle, bajo condiciones estériles, una de las colonias de cada cepa reactivada de *Candida albicans* para luego suspenderla en 5 mL de solución salina fisiológica 0,9 % en un tubo de ensayo hasta llegar a una concentración equivalente con una densidad óptica del tubo N° 0,5 del nefelómetro de la escala de McFarland.¹²

Colocación de los discos

Se utilizó la jeringa de tuberculina estéril y se procedió a la colocación de los discos en las diferentes placas, depositando 6 discos por placa y 10 repeticiones por cada concentración del extracto.

Siguiendo con el procedimiento se voltearon las placas y se incubaron a una temperatura de 37^ac por un tiempo determinado de 24 horas, el desarrollo de todo el procedimiento se realizó dentro del perímetro de 10 centímetros de la llama del mechero.

Siembra de las muestras

Para realizar la siembra se procedió al uso del método kirby Bauer, para el medio de cultivo y mantenimiento del hongo se usó agar sabouraud. Se procedió a la siembra mediante la diseminación con un hisopo de procedencia estéril, se dejó 15 minutos para el secado en las placas.

Se obtuvo un total de 10 placas 21iene con las cepas de *Candida albicans*. Se procedió a rotular cada una con un plumón indeleble a cada placa los cuales

correspondieron al de extracto de extracto etanólico *origanum vulgare* (orégano) a concentraciones de concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100%. Control positivo.

12

Medición de los halos

Para la lectura de resultado fue después de 48 horas, por inspección visual de cada placa, procediendo al registro en milímetros que presentaron los halos de inhibición del crecimiento de las cepas de *Candida albicans*

Para obtener la medida se usó un calibrador en milímetros vernier digital, midiendo los halos de inhibición de todas las concentraciones, incluyendo el perímetro de área del papel filtro. Se consideró susceptible la medida mayor a 8 mm (presenta efecto antifungico)¹²

4.5 Plan de análisis

Los datos recolectados fueron incorporados en una base de datos en IBM SPSS Statistics 22, para ser procesados y presentados en tablas con medias y desviaciones estándar. Se contó con el apoyo de una hoja de cálculo de Microsoft Excel y el programa estadística v10

La solución del extracto fue comparada con el control positivo, para el efecto antifungico en las colonias de *Candida albicans* empleando la prueba de ANOVA y DUNCAN para comparación de los grupos experimentales y control, La significancia estadística fue considerada si $p < 0.05$.

4.6 Matriz de consistencia

| Problema | Objetivos | Hipótesis | Metodología | Población |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <p>Problema general:</p> <p>¿Cuál es el efecto anti fúngico del extracto etanólico del <i>Origanum vulgare</i>(orégano)sobre <i>Candida albicans</i> ATCC 10231?</p> | <p>Objetivo General:</p> <p>Comparar el efecto anti fúngico de cuatro concentraciones de extracto etanólico <i>Origanum vulgare</i>(orégano) sobre cepas de <i>Candida albicans</i> según halo de inhibición.</p> <p>Objetivos Específicos:</p> <p>Determinar el efecto anti fúngico del extracto etanólico de <i>Origanum vulgare</i>(orégano) al 25 % sobre <i>Candida albicans</i> ATCC 10231.</p> <p>Determinar el efecto anti fúngico del extracto etanólico de <i>Origanum vulgare</i>(orégano) al 50 % sobre <i>Candida albicans</i> ATCC 10231.</p> <p>Determinar el efecto anti fúngico del extracto etanólico de <i>Origanum vulgare</i>(orégano) al 75 % sobre <i>Candida albicans</i> ATCC 10231.</p> <p>Determinar el efecto anti fúngico del extracto etanólico de <i>Origanum vulgare</i>(orégano) al 100 % sobre <i>Candida albicans</i> ATCC 10231.</p> <p>Comparara el efecto anti fúngico del extracto etanólico de <i>Origanum vulgare</i> (orégano) y la nistatina sobre <i>Candida albicans</i> ATCC 10231.</p> | <p>El extracto etanólico de <i>Origanum Vulgare</i>(orégano) al 100% tiene mayor efecto antifúngico que las otras 3 concentraciones sobre cepas de <i>Candida albicans</i> ATCC 10231.</p> | <p>Diseño de la investigación:</p> <p>experimental, prospectivo, transversal y analítico</p> <p>Nivel de investigación:</p> <p>Explicativo.</p> | <p>Población:</p> <p>La presente investigación estuvo constituida por placas de agar con cepas de <i>Candida albicans</i> ATCC 10231</p> <p>Muestra:</p> <p>100 µL de una suspensión bacteriana obtenida a partir de la cepa de <i>Candida albicans</i> ATCC 10231.</p> |

4.7 Principios éticos

El presente estudio de investigación es un estudio in vitro que se realiza en placas de Petri, los cultivos micóticos utilizados en la investigación fueron inactivados en autoclave antes de ser eliminados como residuos biocontaminados.

Este estudio de investigación se fundamentó en el código de ética de la Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote, además al finalizar el estudio las placas Petri fueron expuestas a 121° C y 1 Bar de presión en autoclave. A fin de desechar el material biológico contaminado aplicando las normas de manejo de desechos hospitalarios.

V. Resultados

5.1 Resultados

Tabla 1

Comparación de valores individuales del Tamaño de los halos de inhibición (en mm) según grupo de tratamiento de extracto etanólico de *Origanum vulgare* (orégano) sobre sepas de *Candida albicans* ATCC 10231

| Ensayos | Grupos de tratamiento | | | | |
|-----------|-----------------------|-------------|-------------|--------------|-----------|
| | Orégano 25% | Orégano 50% | Orégano 75% | Orégano 100% | Nistatina |
| 1° | 8 mm | 18.5 mm | 19 mm | 23.7 mm | 13.7 mm |
| 2° | 8.5 mm | 18 mm | 19.4 mm | 22.4 mm | 13.7 mm |
| 3° | 8.7 mm | 17 mm | 22.6 mm | 24.2 mm | 13.7 mm |
| 4° | 9.4 mm | 17.6 mm | 24 mm | 23 mm | 13.7 mm |
| 5° | 12.2 mm | 16.4 mm | 18.7 mm | 22.8 mm | 13.7 mm |
| 6° | 10.6 mm | 18.7 mm | 18 mm | 24 mm | 13.7 mm |
| 7° | 10 mm | 18 mm | 21.3 mm | 23 mm | 13.7 mm |
| 8° | 11.7 mm | 19 mm | 20 mm | 21.7 mm | 13.7 mm |
| 9° | 9.7 mm | 18.6 mm | 21 mm | 22.4 | 13.7 mm |
| 10° | 10.4 mm | 17.3 mm | 23 mm | 21.3 mm | 13.7 mm |
| PN: (sig) | 0.24 | 0.3 | 0.5 | 0.2 | 0.0 |

Fuente: datos proporcionados por el investigador.

INTERPRETACION:

Según la medición de halo de inhibición en las diferentes concentraciones de extracto y grupo control, Su efecto inhibitorio fue aumentando conforme aumentó su concentración de extracto etanólico.

Tabla 2

Comparación del efecto anti fúngico de cuatro concentraciones de extracto etanólico de *Origanum vulgare* (orégano) y grupo control sobre cepas de *Candida albicans* ATCC 10231 .

| Grupos de tratamiento | N | Promedio | Desv. Estándar | P |
|-----------------------------------------------|------|----------|----------------|--------|
| 25% | 10 | 9.9 | 1.36 | 0.0000 |
| Extracto etanólico de <i>Origanum vulgare</i> | 50% | 10 | 17.9 | 0.83 |
| | 75% | 10 | 20.7 | 2.02 |
| | 100% | 10 | 22.9 | 0.95 |
| Nistatina | 10 | 13.7 | 0.0 | |

Fuente: datos proporcionados por el investigador.

INTERPRETACION:

Aplicando el test de Anova se encontró diferencias significativas entre los cuatro grupos de tratamiento ($p=0.000<0.05$). La actividad antifúngica de las sustancias experimentales frente a la cepa *Candida albicans* ATCC 10231 se expresó de esta manera; De la concentración 25% del extracto etanólico del *Origanum vulgare* el promedio de halo de inhibición ante la *Candida albicans* fue 9.9, de la concentración al 50% el promedio del halo fue 17.9, de la concentración al 75% el promedio del halo fue 20.7 y de la concentración al 100% fue 22.9.

Tabla 3

Comparación del efecto anti fúngico de cuatro concentraciones de extracto etanólico de *Origanum vulgare* (orégano) y grupo control sobre cepas de *Candida albicans* ATCC 10231 según grupo de tratamiento

| Grupos de Tratamiento | n | Subconjunto para $\alpha= 0.05$ | | | | |
|----------------------------------------|----|---------------------------------|------|------|------|------|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| Extrac. Etan. Origanum vulgare al 25% | 10 | 9.9 | | | | |
| Control (Nistatina) | 10 | | 13.7 | | | |
| Extrac. Etan. Origanum vulgare al 50% | 10 | | | 17.9 | | |
| Extrac. Etan. Origanum vulgare al 75% | 10 | | | | 20.7 | |
| Extrac. Etan. Origanum vulgare al 100% | 10 | | | | | 22.9 |

Fuente: datos proporcionados por el investigador.

INTERPRETACION

Al aplicar el test de Duncan se encontró que cada concentración tiene un efecto diferente y son más efectivos que grupo control. Se formaron sub grupos incluyendo el control positivo Nistatina ($p<0.05$).

5.2 Análisis de resultados

En la última década se investigan numerosas plantas con la finalidad de encontrar en ellas, compuestos antifúngicos el *Origanum vulgare* (Orégano) es una planta que se utiliza en la medicina tradicional por sus múltiples propiedades. En la presente investigación de tipo experimental *in vitro* se comparó el efecto antifungico del extracto etanólico de *Origanum Vulgare* (Orégano) en cuatro concentraciones (25%, 50%, 75% y 100%) con el control positivo Nistatina, frente a cepas de *Cándida albicans* (ATCC 20231). Con respecto a los halos de inhibición se logró obtener una media de 9,9 mm al 25%, 10,82 al 50%, 17,9 mm al 75%, 20.7mm y al 100%, 22,9 mm, como se puede observar dicha sensibilidad se obtiene de forma ascendente según las concentraciones administradas.

En la tabla 2 se observa que los halos de inhibición de las diferentes concentraciones 50%, 75%, y 100% superan el efecto de la nistatina. Esto denota un potencial del orégano que surge como alternativa a los medicamentos sintéticos que se usa. Estos resultados obtenidos probablemente están asociados al carvacol que pueden influenciar para generar su poder antifúngico en gran concentración.¹⁵

La evidencia científica encontrada en el presente estudio, demuestra que la *Candida albicans* es susceptible a la acción antifungica del extracto etanólico del *Origanum vulgare* a medida que aumenta la concentración se obtiene un promedio mayor de halos de inhibición. La concentración al 100% demostró la actividad antifúngica más eficaz contra *Candida albicans*. Concuenda con Colpa M,(2016)³ que evaluó el efecto inhibitor del extracto etanólico de *Origanum vulgare* en comparación a la Nistatina frente a cepas de *Candida albicans* con las concentraciones (25%, 50%, 75% y 100), el presente estudio se hizo evidente la gran actividad antifúngica que presenta el extracto de orégano al 100%, Sin embargo en este porcentaje tiene mayor efecto tóxico, por ello se sugiere realizar estudios de citotoxicidad en esta concentración.

Según nos menciona Maravi G (2012)⁴, en su estudio sobre el efecto antifúngico producido por el extracto etanólico de *Origanum vulgare* evaluando sus efectos sobre *Candida albicans* al 50% y 100%, utilizó el método de arrastre por vapor de agua y dieron como resultado que en la concentración de 50 % mostró un promedio de halos de 23,67 mm, al 100 %, de 56,25 mm; de esta manera sus resultados mostraron diferencias con los del presente estudio concluyendo que tuvieron mayor efecto antifúngico en las mismas concentraciones.

Los resultados obtenidos en este estudio se asemejan a los obtenidos en los estudios anteriores de Chamba⁶ y Quintanilla J⁷, donde evaluaron el efecto antifúngico frente a cepas de *Candida albicans*. Se obtuvo por medio de la técnica de arrastre a vapor en diferentes concentraciones, demostrando a través de sus halos de inhibición ser efectivo para inhibir el crecimiento de *Candida albicans*, dicho efecto antimicótico se le atribuye a la planta ya que dentro de sus componentes químicos se encuentra timol y carvacrol, los cuales según la investigación mencionada son los responsables de la actividad antifúngica.

Hay resultados contradictorios con Paredes⁸ y Villavicencio⁹ quienes en sus estudios obtuvieron resultados diferentes en sus halos e inhibición, pudiéndose deber a las variaciones metodológicas y de los materiales empleados, señalando que puede deberse a diversos factores como la técnica de valoración, medio de crecimiento, microorganismos empleados y la composición química de los extractos. Esto también se debería a las condiciones del lugar donde la planta se desarrolló, como el suelo, clima, altura generando alteraciones en su composición.

Asimismo, mencionamos que los diferentes experimentos in vitro tienen ciertas limitaciones a su posible eficacia in vivo, los resultados presentados en este estudio requieren atención respecto a su efecto citotóxico de los extractos etanólicos. Por ello se incentiva a realizar más investigaciones futuras para evaluar efectos citotóxicos del extracto etanólico de *Origanum vulgare* (Orégano) y a la vez, se sugiere hallar una concentración mínima inhibitoria ideal para cada extracto estudiado.

VI. Conclusiones

El extracto etanólico de *Origanum vulgare* al 100% presentó el mayor efecto antifúngico frente a cepas de *Candida albicans* ATCC 10231.

El extracto etanólico de *Origanum vulgare* tiene efecto antifúngico en las concentraciones 25%, 50%, 75% y 100% sobre la cepa de *Candida albicans* ATCC 10231.

Aspectos complementarios

1. Realizar estudios in vitro sobre el efecto antifúngico del extracto etanólico de *Origanum vulgare* (orégano) en otras bacterias patógenas presentes en la cavidad bucal y tener otra alternativa en los tratamientos odontológicos
2. Realizar estudios microbiológicos de diferentes productos naturales que hayan demostrado efecto antifúngico y que se podría utilizar en odontología.

VIII Referencias bibliográficas:

1. Arcila-Lozano C, Loarca-Piña G, Lecona-Uribe S, González de Mejía E. El orégano: propiedades, composición y actividad biológica de sus componentes Scielo.org.ve. 2018 cited 10 ABRIL 2018. Disponible en: http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222004000100015
2. García-Pérez E, Fernando Francisco C, Gutiérrez-Uribe J, García-Lara S. Revisión de la producción, composición fitoquímica y propiedades nutraceuticas del orégano mexicano, Scielo.org.mx. 2018 cited 11 MAYO 2018. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-09342012000200010
3. Paredes M. Efectividad inhibitoria del aceite esencial de orégano de pastaza y santo domingo de los tsáchilas al 100% de concentración sobre láminas de acrílico inoculadas con candida albicans”. 1st ed. Quito; 2017. Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/9817>
4. Palacios E, Valverde P, Efectividad antimicótica del aceite esencial de orégano de las provincias de 31iener31azo y santa elena al 100% de concentración sobre Candida albicans, Editorial uce, quito. Ecuador-2017. Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/9882>
5. Colpa 31iener M. Efecto inhibidor del aceite esencial de origanum vulgare (orégano) y mentha piperita (menta) frente a cepas de Cándida albicans. Estudio in vitro”. Lima 2016. Repositorio.uwiener.edu.pe. 2018 cited 28 OCTOBER 2017. Disponible en:http: repositorio.uwiener.edu.pe/bitstream/handle/123456789/580/TITULO%20%20COLPA%20ZAMORA%20MAX%20DICKSON.pdf?sequence=1&isAllowed=y
6. Quintanilla J, Efecto antibacteriano in vitro del carvacrol (aceite de orégano) sobre Candida albicans, revista de investigación de la universidad norbert 31iener, 2016 Disponible en:

https://intranet.uwiener.edu.pe/univwiener/portales/centroinvestigacion/documentacion/revista_5/3_EFECTO%20ANTIBACTERIANO%20IN%20VITRO%20DEL%20CARVACROL.pdf

7. Villavicencio J, Efecto antimicótico in vitro del aceite esencial del orégano (*Origanum vulgare*) en cepas de *Candida albicans*, *Odontol. Sanmarquina* 2016; 19(2):5-8

Disponible en: <https://doi.org/10.15381/os.v19i2.12907>

8. Chamba I. Efecto antifúngico del aceite esencial del *Origanum vulgare* (orégano) y *Cymbopogon citratus* (hierba luisa), sobre cepas de *Candida albicans* en comparación con la nistatina estudio in vitro, universidad central del Ecuador, Facultad de odontología, Quito – Ecuador, 2015.

Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/3538>

9. Maravi G, Efecto antibacteriano y antifúngico del aceite esencial de: menta piperita (menta), *Origanum vulgare* (orégano) y *Cymbopogon citratus* (hierba luisa) sobre *Streptococcus mutans* atcc 25175, *Lactobacillus acidophilus* atcc 10746 y *Candida albicans* atcc 90028, Universidad privada Norbert Wiener, Lima-Perú, 2012

Disponible: <http://repositorio.uwiener.edu.pe/handle/123456789/48>

10. Tapia D. Candidiasis oral: Aspectos clínicos y diagnóstico, Universidad peruana Cayetano Heredia, Lima Perú; 2011.

Disponible en: <http://www.cop.org.pe/bib/tesis/dianaisabeltapiarengifo.pdf>

11. Tello J. Acción antimicrobiana del *Anacardium occidentale* sobre *Candida albicans* y *Staphylococcus aureus*. Estudio in vitro. Tesis para obtener el título de cirujano dentista. Universidad Nacional Mayor San Marcos, Lima-Perú, 2011.

Disponible:

http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/cybertesis/2760/Tello_vj.pdf?sequence=1&isAllowed=y

12. Calderón M. Eficacia de diferentes agentes desinfectantes en la remoción de *Candida albicans*, *Streptococcus mutans* y *Enterococcus faecalis* adheridos a resina acrílica de termocurado. Universidad nacional de san marcos, Facultad de Odontología, Lima-Perú, 2014.

Disponible en: <https://doi.org/10.15381/os.v17i2.11047>

13. Silva C, De Weber B, Adriaens. Clinical and antimicrobial efficacy of NitrAdine™- based disinfecting cleaning tablets in complete denture wearers. *J Appl Oral Sci.* ;18(6), 2010.

Disponible: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21308285>

14. Bagiotto M, Unfer B, Gressler L. Analysis of the Effectiveness of Different Hygiene Procedures Used in Dental Prostheses. Oral Health & Preventive Dentistry, 2011.

Disponible: https://www.researchgate.net/publication/51784090_Analysis_of_the_effectiveness_of_different_hygiene_procedures_used_in_dental_prostheses

15. Tonguino M. Determinación de las condiciones óptimas para la deshidratación de dos plantas aromáticas: Menta (*Mentha piperita* L) y Orégano (*Origanum vulgare*), Tesis previa la obtención del título de Ingeniero Agroindustrial, Ecuador: Universidad Técnica del Norte, 2011.

Disponible: <http://repositorio.utn.edu.ec/bitstream/123456789/385/1/03%20AGI%20273%20TESIS.pdf>

16. Miranda M. Métodos de Análisis de Drogas y Extractos. Instituto de Farmacia y Alimentos, Universidad Habana de Cuba, 2002.

Disponible: <http://www.revplantasmedicinales.sld.cu/index/pla/rt/printerFriendly/476/202>

17. Flores A, Metodos de análisis microbiológico ce candida albicans, microbiología meical, universidad nacional san marcos, Lima- Perú, 2015.

Disponible en: http://biologia.unmsm.edu.pe/pregrado/doc/syllabus_cb_2015-I/2015-1%20MICROBIOLOGIA%20GRAL.%20PROF.%20MIGUEL%20TALLEDO%20PLAN%202003.docx.

18. Villanueva V., Moromi H. Plantas medicinales: Efecto antibacteriano in vitro de *Plantago major* L, *Erythroxyllum novogranatense*, *Plowman* var *truxillense* y *Camellia sinensis* sobre bacterias de importancia estomatológica. Odontol Sanmarquina. 2010; 13(2): 21-5

Disponible: <https://doi.org/10.15381/os.v13i2.2853>

19. Brum C. et al. In vitro activity of *origanum vulgare* essential oil against candida species. Brazilian Journal of Microbiology. 2010; 41: 116-123

Disponible: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3768597/>

20. Moreno A. et al. Uso de la fitoterapia en 3 clínicas estomatológicas de Santiago de Cuba. MEDISAN. 2011; 15(4): 489.

Disponible: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S102930192011000400013

21. Castañeda B, Cabrera A, Procesamiento de datos y análisis estadísticos utilizando SPSS, Pontificia universidad católica de Rio Grande, Editor jefe, Porto Alegre- Brasil, 2010.

Disponible en: <http://www.pucrs.br/edipucrs/spss.pdf>

22. Pardi, G. Cardozo, E. Perrone, M. “Detección de Especies de Cándida en Pacientes con Estomatitis Sub-Protésica. Acta odontol. Venez.”[Online]. Dic. 2001, vol.39, no.3 [citado 31 Marzo 2011], p.32-44.

Disponible: http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0001-63652001000300006&lng=es&nrm=iso. ISSN 0001-6365.

23. Becton D. Sabouraud Glucose Agar, instrucciones de uso –medios en placa listos para usar, Rev.: April 2013.

Disponible: <https://www.bd.com/resource.aspx?IDX=8776>

24. Hernández, Fernández, Baptista. (2014), Metodología de la Investigación. México: McGraw-Hill.

Disponible:

http://www.esup.edu.pe/descargas/dep_investigacion/Metodologia%20de%20la%20investigaci%C3%B3n%205ta%20Edici%C3%B3n.pdf

ANEXOS

Anexo 1

Vernier digital marca Mitutoyo, Modelo 500-196-20 ABSOLUTE Digimatic Caliper
0-150mm / 0-6", por estar calibrado y validado con ISO de calidad 17025



Fuente: <http://www.valiometro.pe>


Anexo 2

Ficha de Recolección de Datos

| ensayos | Efecto Antifúngico en (mm) | | | | |
|---------|----------------------------|-----|-----|------|---------|
| | Extracto de Orégano en % | | | | |
| | 25% | 50% | 75% | 100% | Control |
| 1 | | | | | |
| 2 | | | | | |
| 3 | | | | | |
| 4 | | | | | |
| 5 | | | | | |
| 6 | | | | | |
| 7 | | | | | |
| 8 | | | | | |
| 9 | | | | | |
| 10 | | | | | |

Anexo 03

Constancia de determinación taxonómica

**Herbarium Truxillense (HUT)**
Universidad Nacional de Trujillo
Facultad de Ciencias Biológicas
Jr. San Martín 392, Trujillo - Perú

Constancia N° 132 – 2018- HUT

EL DIRECTOR DEL HERBARIUM TRUXILLENSE (HUT) DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO.

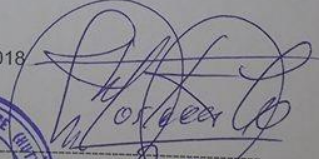
Da Constancia de la determinación taxonómica de un (01) espécimen vegetal:


- **Clase:** Equisetopsida
- **Subclase:** Magnoliidae.
- **Superorden:** Asteranae
- **Orden:** Lamiales
- **Familia:** Lamiaceae
- **Género:** *Origanum*
- **Especie:** *O. vulgare* L.
- **Nombre vulgar:** "orégano"

Muestra alcanzada a este despacho por GARCIA YBAÑEZ ALVARO LEODAN, identificado con DNI N° 45202776, con domicilio legal en Mz. R Lote 21 Alto Trujillo; estudiante de la Facultad de Odontología de la Universidad Católica los Ángeles de Chimbote, cuya determinación taxonómica servirá para la realización del Proyecto de Tesis: "Efecto anti fúngico del extracto etanólico de *Origanum vulgare* "orégano" sobre cepas de *Candida albicans* ATCC10231 ."

Se expide la presente Constancia a solicitud de la parte interesada para los fines que hubiera lugar.

Trujillo, 30 de Enero del 2018


Dr. JOSE MOSTACERO LEON
Director del Herbario HUT



cc. Herbario HUT

E- mail: herbariumtruxillensehut@yahoo.com

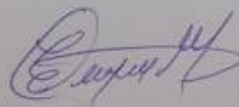
Anexo 4

CONSTANCIA DE COLABORACION

Yo, Dra Elva Mejia Delgado, docente de la facultad de medicina de la Universidad Nacional de Trujillo, Certifico haber colaborado en la parte microbiológica de la tesis titulada" **EFFECTO ANTIFÚNGICO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DEL Origamun vulgare (oregano) SOBRE cepas de Cándida albicans ATCC 10231**", cuyo autor es: **GARCIA YBAÑEZ ALVARO LEODAN**, alumno de la facultad Ciencias de la Salud de la carrera de Odontología de la Universidad Católica los Ángeles de Chimbote con DNI **45202776** y cogido de alumno **1610112026**

Se expide esta constancia, a solicitud del interesado, para los fines que estime pertinentes

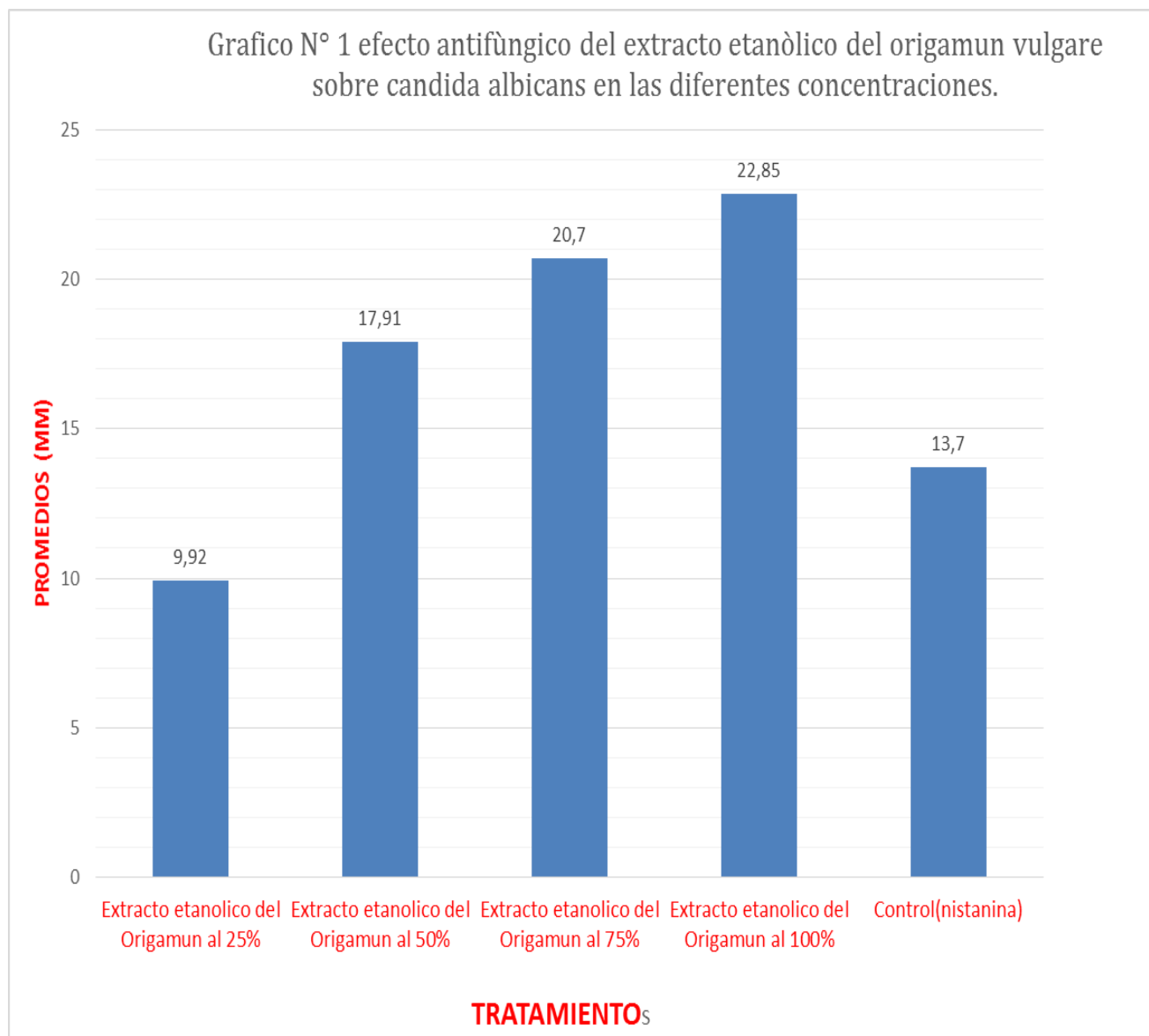
Trujillo, 26 de febrero de 2018



Dra. Elva mejia delgado
Cod. Docente:3147

ANEXO 6

Grafico 1



Fuente: datos proporcionados por el investigador.

ELABORACION DEL EXTRACTO

Recolección de la planta

El orégano fue traído desde el distrito de Sinsicap provincia de Otuzco, región La Libertad 3 kilogramos.



Lavado de la planta

Se lavó las hojas con agua destilada y luego se desinfectaron con hipoclorito de sodio al 0.5%.



Secado

Se procedió a separar las hojas del tallo, así mismo Las hojas son colocadas en papeles Kraft, y se llevaron a secar a una estufa de circulación de aire por convección forzada (40 °C) por 48 horas.



Pulverización

Las hojas una vez secadas fueron pulverizadas con ayuda de un mortero.



Tamizaje: las hojas pulverizadas, fueron tamizadas a través del tamiz N° 0.75



Preparación del extracto etanólico

Se pesaron 250 gr de polvo de hoja de *Origanum vulgare* previamente tamizadas



Se añadió etanol al 96° 2.5 lts. cantidad suficiente hasta cubrir la muestra por sobre 2 cm de altura del recipiente.



Filtrado

Se procedió a realizar el filtrado colocando discos de papel filtro tipo whatman # 3, se usaron 5 discos durante todo el filtrado del extracto



Depósito del extracto

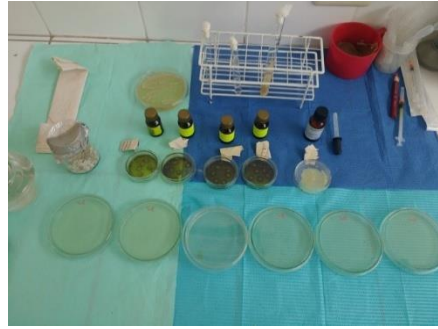
El extracto etanólico en las diferentes concentraciones al 25%, 50%, 75%, 100% en frascos de vidrio de color ámbar, etiquetados con la descripción de cada concentración que contienen.



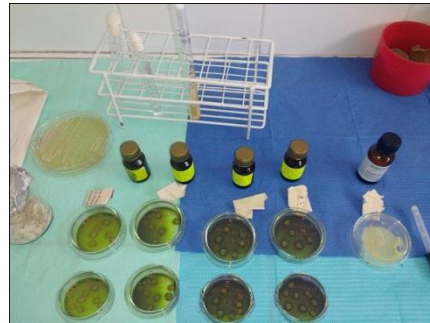
Enfrentamiento microbiano

Sembrado de placas y difusión en agar

Se empleó discos de papel filtro de 6mm de diámetro, los cuales fueron impregnados con: Extracto etanólico de *Origanum vulgare* (Orégano) al 25, 50, 75 y 100% , Como control positivo se utilizó: Nistatina .



Utilizando una jeringa de tuberculina estéril se colocaron los discos en las placas, siendo 12 discos por placa y 10 repeticiones por cada porcentaje concentrado del extracto y un disco para el control con nistatina.

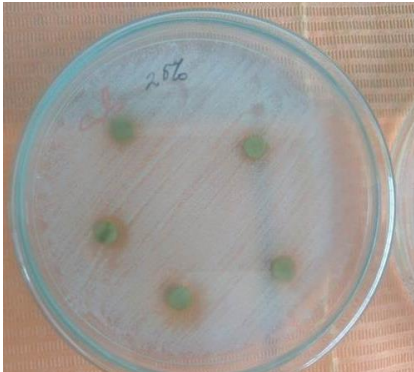


Medición de los halos

Se procedió a la realización de una ficha para registrar los datos de los halos formados en los cultivos. Actividad realizada de forma manual y visual con la ayuda de una regla milimétrica. La lectura consistió en medir los halos de inhibición alrededor del disco, siendo esta zona directamente proporcional a la actividad de las diferentes concentraciones del extracto.



Halo formado por el orégano al "25%".



Halo formado por el orégano al "50%".



Halo formado por el orégano al "75%".



Halo formado por el orégano al "100%".



Halo formado por el orégano y el control-nistatina

