

**UNIVERSIDAD INTERNACIONAL DE LAS  
AMÉRICAS**

**ESCUELA DE CIENCIAS DE LA SALUD  
CARRERA DE FARMACIA**

**ANÁLISIS DEL EFECTO ANTIFÚNGICO DEL ACEITE  
ESENCIAL DE *Origanum vulgare* (Orégano) IN VITRO  
SOBRE CEPAS DE *Cándida albicans*.**

**AUTORA:**

**MARÍA LAURA CALVO GUZMÁN**

**TUTOR:**

**Dr. CARLOS MORA RODRÍGUEZ**

**ARANJUÉZ, ENERO, 2018**

## Agradecimiento

Primeramente, a Dios por darme tantas oportunidades a lo largo de estos años de vida, por estar siempre a mi lado y al de mi familia. Por todas las bendiciones y personas de gran corazón que ha puesto en mi camino.

A mis papás por todo el apoyo incondicional que me han dado siempre, por confiar y creer en mí. Gracias por todo el esfuerzo que siempre han hecho por mí y por mi hermana. Por siempre creer en mí y ser mi soporte siempre.

A mi hermana, por todo el apoyo y la ayuda que me ha brindado.

A mi novio, por apoyarme tanto y ayudarme, por estar a mi lado incondicionalmente, además de ser paciente cuando estaba estresada por la U.

A todos mis familiares que estuvieron a lo largo de estos años de mi carrera en Farmacia, por todo el apoyo y cariño que me han brindado siempre, especialmente a mis tíos Luis Fernando y Marielos por el apoyo incondicional.

A mis amigas y compañeras de lucha a lo largo de ésta carrera;

A Celeste, por ser la mejor amiga incondicional, por apoyarme y ayudarme siempre. Por tener palabras de motivación en los momentos que más los necesitaba.

A Sai por apoyarme y escucharme cuando lo necesitaba, por tener siempre palabras de apoyo y por soportarme cuando andaba estresada. Más que una compañera te convertiste en una gran amiga.

A Ale porque siempre nos ayudabas en todo lo que podías en los cursos y porque siempre nos motivabas especialmente con comunitaria. Gracias por ser tan buena amiga y también por ayudarme con la cepa de *Cándida albicans*.

A Dani por ser tan linda y siempre enviarme mensajes de motivación. También por explicarme cuando no entendía algo relacionado a las materias. Iniciamos y terminamos la carrera juntas.

A Meli por todo tu apoyo y ayuda incondicional. Por siempre tener palabras lindas cuando más las necesitaba y por estar siempre ahí.

Los quiero mucho chic@s, vamos a llegar muy lejos y seremos grandes profesionales.

A mi tutor el Dr. Carlos Mora por toda la ayuda que brindó y por toda la paciencia que me tuvo para poder obtener los resultados deseados en este presente trabajo. Sin su ayuda no lo hubiera logrado.

A la profe Meli, por ayudarme tanto y ser tan servicial conmigo siempre. La aprecio mucho profe.

Al profe Amey por las palabras de apoyo y aliento que me brindó cuando se me presentó una situación difícil, gracias a sus palabras de motivación pude continuar. Se lo agradezco mucho.

A todos los profesores que me formaron a lo largo de esta carrera universitaria, gracias a sus conocimientos y críticas constructivas que me brindaron, hoy soy la futura profesional en farmacia. Sin tod@s ustedes no lo hubiera logrado.

A la Dra. Eva Diana Quirós, por todo el apoyo y ayuda que me brindó siempre, es una excelente directora y un gran ser humano. Que Dios la bendiga. La estimo y le tengo mucho aprecio.

A Davis, Raxel y Yendry por ayudarme tanto en el laboratorio, por sus consejos y por las palabras que me dieron para seguir adelante cuando los resultados no eran los que se esperaban.

A Nati por siempre recibirnos con una sonrisa y muy amablemente cuando llegábamos a buscar a la directora.

## **Dedicatoria**

Quiero dedicar esta tesis a Dios por ser un ser tan importante en mi vida y por haberme permitido llegar hasta este punto tan importante de mi formación académica y personal.

A mis papitos por enseñarme a luchar por nuestras metas y deseos, y a nunca rendirme a pesar de las adversidades que se presenten. Sin ustedes no hubiera podido llegar hasta este momento.

A mi hermana Vale, por ser un ejemplo de lucha para mí, por escucharme y aconsejarme siempre.

A Alberto mi novio, por ser un ejemplo de lucha y superación.

A toda mi familia por apoyarme siempre.

A mis abuelitos maternos y mi abuelito paterno que sé que desde el cielo están muy orgullosos de mí. Todos los logros que he tenido hasta este momento se los dedico a ustedes, por ser un gran ejemplo de lucha, amor y entrega para mí. Los amo hasta el cielo.

A mi abuelita paterna por todo el apoyo, cariño y ejemplo de lucha.

## **Pensamiento**

*Recuerda con gratitud el pasado, vive con pasión el presente y ábrete con esperanza al futuro.*

*San Juan Pablo II*

## Contenido

RESUMEN.....	12
CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN .....	14
Planteamiento del problema .....	14
Hipótesis .....	15
Objetivos.....	16
Objetivo General.....	16
Objetivos específicos .....	16
Justificación.....	17
Antecedentes.....	20
Proyecciones.....	28
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO .....	29
Generalidades de la piel.....	29
Anatomía de la piel .....	29
Fisiología de la piel.....	39
Plantas medicinales.....	40
Fitofármacos .....	40
Orégano .....	42
Características .....	42
Composición química .....	42
Componentes del aceite esencial .....	43
Beneficios de los componentes del aceite esencial.....	44
Efecto antibacteriano .....	44
Método de extracción.....	44
Aceites esenciales .....	45
Historia de los aceites esenciales .....	45
Definición .....	45
Composición química .....	45
Métodos de extracción .....	45
Método de destilación por arrastre de vapor.....	46
Espectroscopía infrarroja.....	47

Cándida albicans.....	49
Definición .....	49
Origen .....	49
Taxonomía .....	50
Etiopatogenia .....	50
Composición de la pared de <i>Cándida albicans</i> .....	53
Patogenia.....	53
Epidemiología .....	57
Vía de entrada .....	58
Edad y sexo .....	58
Periodo de incubación.....	58
Factores de predisposición.....	58
Clasificación .....	61
Candidosis mucocutánea.....	62
Candidosis oral.....	62
Candidosis genital .....	64
Candidosis del tracto gastrointestinal .....	65
Candidosis cutánea.....	67
Onicomycosis por cándida.....	69
Candidosis sistémica o profunda .....	72
Manifestaciones clínicas .....	73
Diagnóstico .....	74
Toma de muestra.....	74
Examen directo .....	74
Cultivos .....	75
Biopsia .....	76
Radiografías y tomografías .....	76
Pruebas inmunológicas .....	76
Serología .....	76
Concentración mínima inhibitoria.....	77
Tratamiento.....	77
Antimicóticos.....	77

Clotrimazol .....	80
Terbinafina.....	82
Nistatina .....	83
CAPÍTULO III: MARCO METODOLÓGICO .....	85
Enfoque.....	85
Método.....	85
Fuentes de información .....	86
VARIABLES .....	86
Instrumentos y técnicas de recolección .....	87
Proceso de recolección de la muestra de Orégano.....	87
Materiales y equipo para la obtención del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> (Orégano) por el método de arrastre de vapor.....	88
Método de extracción del aceite esencial <i>Origanum vulgare</i> (orégano) por arrastre de vapor .....	90
Proceso de purificación del extracto de <i>Origanum vulgare</i> .....	91
Identificación de grupos funcionales por espectroscopia infrarroja .....	93
Pruebas de identificación química de grupos funcionales.....	94
Identificación de alcaloides mediante el ensayo con reactivo Dragendorff.....	94
Identificación de Terpenos mediante la prueba de Libermann- Burchard.....	94
Identificación de flavonoides: Ensayo de Shinoda .....	94
Identificación de Antraquinonas .....	95
Identificación de fenoles .....	95
Pruebas microbiológicas de identificación de actividad antifúngica del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> .....	95
Evaluación de la actividad antifúngica sobre <i>Cándida albicans</i> .....	95
Método para determinar la actividad antifúngica del aceite de <i>Origanum vulgare</i> frente a <i>Cándida albicans</i> .....	96
Procedimiento para la elaboración de la crema con el aceite esencial obtenido.....	100
CAPÍTULO IV: ANÁLISIS DE RESULTADOS .....	102
Extracción y purificación del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> (Orégano) obtenido mediante el método de arrastre con vapor. ....	102
Identificación de los metabolitos activos presentes en el aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> .....	106
Análisis del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> por espectroscopia infrarroja IR.....	112

Evaluación del efecto antifúngico del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> sobre cepas de <i>Cándida albicans</i> mediante la medición de halos de inhibición. ....	114
Formulación de una crema anti fúngica de uso tópico a partir del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> .....	117
CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....	121
Referencias .....	123

## Contenido de Tablas

<b>Tabla 1. Actividad Que Presentan Los Géneros Del Orégano .....</b>	<b>44</b>
<b>Tabla 2. Taxonomía de <i>Cándida</i> .....</b>	<b>50</b>
<b>Tabla 3. Factores de Predisposición .....</b>	<b>59</b>
<b>Tabla 4. Variedades Clínicas de <i>Cándida albicans</i> .....</b>	<b>61</b>
<b>Tabla 5. Clasificación de la Candidosis .....</b>	<b>64</b>
<b>Tabla 6. Tipos de Antimicóticos y Grupos de Químicos a los que Pertenecen .....</b>	<b>78</b>
<b>Tabla 7. Variables del Método Experimental .....</b>	<b>86</b>
<b>Tabla 8. Características Organolépticas Del Aceite Esencial De <i>Origanum vulgare</i> Obtenido En El Laboratorio De Química De La Universidad Internacional De Las Américas.....</b>	<b>105</b>
<b>Tabla 9. Pruebas Cualitativas Realizadas.....</b>	<b>111</b>
<b>Tabla 10. Señales Detectadas En El Espectro Del Aceite Esencial De <i>Origanum vulgare</i> Obtenido En La Universidad Internacional De Las Américas .....</b>	<b>113</b>
<b>Tabla 11. Análisis De Actividad Frente A <i>Cándida albicans</i> Mediante Halos De Inhibición, Del Extracto De <i>Origanum vulgare</i> Y Medicamentos Control.....</b>	<b>115</b>
<b>Tabla 12. Componentes Utilizados Para Formular La Crema .....</b>	<b>118</b>
<b>Tabla 13. Características Organolépticas De La Crema Del Aceite Esencial De <i>Origanum vulgare</i> .....</b>	<b>120</b>

## Contenido de figuras

<b>Figura 1. Anatomía de la Piel</b> .....	30
<b>Figura 2. Melanocito con Gránulos de Melanina</b> .....	33
<b>Figura 3. Componentes de la Piel</b> .....	37
<b>Figura 4. Glándula Sebácea</b> .....	38
<b>Figura 5. Composición Química del Orégano</b> .....	43
<b>Figura 6. Instrumentos del Método de Destilación por Arrastre con Vapor</b> .....	46
<b>Figura 7. Componentes del Aparato De Espectrofotometría</b> .....	48
<b>Figura 8. Aparato De Espectrofotometría Infrarroja</b> .....	48
<b>Figura 9. Ejemplo De Espectro De Infrarrojo Con Algunos Compuestos Orgánicos Señalados</b> .....	49
<b>Figura 10. <i>Cándida albicans</i></b> .....	51
<b>Figura 11. Hifas de <i>Cándida albicans</i></b> .....	51
<b>Figura 12. Formación de Hifas de <i>Cándida albicans</i></b> .....	52
<b>Figura 13. Formación de Clamidoconidia</b> .....	53
<b>Figura 14. Patogenia de las Infecciones por <i>Cándida albicans</i></b> .....	54
<b>Figura 15. Invasión por <i>Cándida albicans</i></b> .....	54
<b>Figura 16. Factores de Virulencia de <i>Cándida albicans</i></b> .....	56
<b>Figura 17. Formas de Invasión de <i>Cándida albicans</i></b> .....	57
<b>Figura 18. Candidosis Seudomembranosa</b> .....	62
<b>Figura 19. Candidosis Oral Crónica Hiperplásica</b> .....	63
<b>Figura 20. Queilitis Angular</b> .....	63
<b>Figura 21. Vaginitis Candidósica</b> .....	64
<b>Figura 22. Balanoprositis Candisósica</b> .....	65
<b>Figura 23. Candidosis Broncopulmonar</b> .....	66
<b>Figura 24. Candidosis Interdigital</b> .....	67
<b>Figura 25. Intertrigo Mamario</b> .....	68
<b>Figura 26. Candidosis Inguinal</b> .....	68
<b>Figura 27. Paroniquia</b> .....	69
<b>Figura 28. Onicólisis</b> .....	70
<b>Figura 29. Onixis</b> .....	70
<b>Figura 30. Candidosis del Área del Pañal</b> .....	71
<b>Figura 31. Pustulosis Candidósica Diseminada</b> .....	71
<b>Figura 32. Candidosis Cutánea Congénita</b> .....	72
<b>Figura 33. Cultivo de <i>Cándida albicans</i></b> .....	75
<b>Figura 34. Cultivo de <i>Cándida</i></b> .....	75
<b>Figura 35. Biopsia de Candidosis</b> .....	76
<b>Figura 36. Mecanismo de Acción de los Antimicóticos</b> .....	78
<b>Figura 37. Estructura de Clotrimazol</b> .....	81
<b>Figura 38. Fórmulas Estructurales de Compuestos Azólicos</b> .....	81
<b>Figura 39. Molécula de Terbinafina</b> .....	83
<b>Figura 40. Molécula de Nistatina</b> .....	84

<b>Figura 41. Método de Extracción del Aceite Esencial de <i>Origanum vulgare</i> por Arrastre con Vapor .....</b>	<b>91</b>
<b>Figura 42. Proceso de Purificación del Extracto Obtenido .....</b>	<b>92</b>
<b>Figura 43. Proceso de Obtención del Aceite Esencial .....</b>	<b>92</b>
<b>Figura 44. Espectrofotómetro Infrarrojo IR Usado para la Identificación de Grupos Funcionales en el Aceite Esencial de <i>Origanum vulgare</i> .....</b>	<b>93</b>
<b>Figura 45. Cepa de <i>Cándida albicans</i> en Medio de Tioglicolato.....</b>	<b>97</b>
<b>Figura 46. Placa de Petri Rayada con la Cepa de <i>Cándida albicans</i>.....</b>	<b>97</b>
<b>Figura 48. Sustancias por Colocar en las Perforaciones de la Placa de Petri.....</b>	<b>98</b>
<b>Figura 47. Placa de Petri con las Perforaciones para los Medicamentos.....</b>	<b>98</b>
<b>Figura 50. Incubadora .....</b>	<b>99</b>
<b>Figura 49. Sustancias Colocadas en la Placa a Analizar .....</b>	<b>99</b>
<b>Figura 51. Reactivos utilizados para la elaboración de la crema.....</b>	<b>101</b>
<b>Figura 52. Partes de la planta por utilizadas para obtener aceite esencial de orégano .....</b>	<b>102</b>
<b>Figura 53. Extracto Destilado Obtenido por Destilación por Arrastre con Vapor.....</b>	<b>103</b>
<b>Figura 54. Proceso De Purificación Del Extracto de <i>Origanum vulgare</i> Obtenido Mediante Destilación Por Arrastre Con Vapor.....</b>	<b>104</b>
<b>Figura 55. Aceite Esencial De <i>Origanum vulgare</i> Obtenido .....</b>	<b>106</b>
<b>Figura 56. Prueba De Dragendorff.....</b>	<b>107</b>
<b>Figura 57. Prueba De Libermann- Buchard.....</b>	<b>108</b>
<b>Figura 58. Prueba De Shinoda .....</b>	<b>109</b>
<b>Figura 59. Prueba De Identificación De Fenoles .....</b>	<b>110</b>
<b>Figura 60. Prueba De Identificación De Antraquinonas .....</b>	<b>111</b>
<b>Figura 61. Espectro Del Aceite Esencial De <i>Origanum vulgare</i> Obtenido En La Universidad Internacional De Las Américas.....</b>	<b>112</b>
<b>Figura 62. Espectro Del Aceite Esencial De <i>Origanum vulgare</i> Obtenido En La Literatura .....</b>	<b>113</b>
<b>Figura 63. Halos De Inhibición Obtenidos.....</b>	<b>116</b>
<b>Figura 64. Reactivos Utilizados Para La Obtención De La Crema De <i>O. vulgare</i>.....</b>	<b>118</b>
<b>Figura 65. Producto Terminado Etiquetado Realizado En La Universidad Internacional De Las Américas .....</b>	<b>119</b>

## RESUMEN

El presente trabajo de investigación tiene como objetivo analizar el efecto antifúngico del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) sobre cepas de *Cándida albicans* y crear una forma farmacéutica con dicho aceite, que pueda funcionar como tratamiento para dicho hongo.

Para desarrollar la investigación se realizaron procedimientos en los laboratorios de química de la Universidad Internacional de las Américas y en el laboratorio microbiológico Microlabs, ubicado en Guadalupe de San José, Costa Rica.

Primeramente, se realizó una destilación por arrastre con vapor para obtener el extracto del orégano y para purificarlo se utilizó el aparato de rotavapor. Además, se realizaron pruebas cualitativas de identificación de grupos como alcaloides, fenoles, terpenos, flavonoides y antraquinonas además de la prueba de espectroscopia infrarroja (IR). Obteniendo resultados positivos a la presencia de carvacrol que es el metabolito activo al cual se le confiere la actividad antifúngica sobre las cepas del hongo en estudio.

La evaluación de la actividad antifúngica se realizó mediante el método Kirby- Bauer, obteniéndose que el halo de inhibición de mayor tamaño correspondió al aceite esencial de *Origanum vulgare*, seguido de los fármacos nistatina y clotrimazol; terbinafina no resultó un buen medicamento para tratar *Cándida albicans* debido a que no se formó un halo de inhibición.

Para finalizar se realizó una crema con el aceite esencial obtenido y se sometió a pruebas microbiológicas; sin embargo, debido a la poca cantidad del aceite que se le agregó a la base de la crema no se formó un halo de inhibición. Sin embargo, el aceite puro sí mostró una actividad antifúngica lo que lo convierte en un potencial tratamiento para tratarlo, y de esta manera optar por

nuevas opciones farmacológicas y así lograr disminuir la resistencia o proveer de otra opción para el tratamiento diferente a los que se encuentran en actualmente en el mercado farmacéutico.

## CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN

### Planteamiento del problema

Actualmente, las infecciones por hongos como *Cándida albicans* están en aumento, principalmente en personas con el sistema inmunológico débil, llegando a desencadenar infecciones sistémicas graves que pueden causarles la muerte; aunado a esto la resistencia de dichos hongos a los medicamentos disponibles en el mercado farmacéutico también va en gran aumento lo que genera gran incertidumbre sobre el destino de tratamiento para dichas patologías en casos específicos donde además de padecer esta patología transitoriamente, presenta otras patologías como es el Síndrome de inmunodeficiencia adquirido.

“La resistencia de *Candida* sp. representa un reto terapéutico que deja un menor número de posibilidades para el tratamiento de estas infecciones que se caracterizan, a su vez, por una alta morbimortalidad.” (Villavicencio,2016, p.5)

Es por esta razón que se decide enfocar esta investigación en la búsqueda de nuevos tratamientos, y de esta forma diversificar los encontrados en el mercado para tratar dicha patología en procura de innovar cada vez en el ámbito de la farmacología y de esta manera crear medicamentos con nuevas tecnologías o procedentes de materias primas encontradas en la naturaleza; las cuales son sometidas a diversos procedimientos y métodos para obtener las sustancias que se necesitan.

Lo anterior debido a que en el presente se han registrado tendencias a la resistencia de dicho hongo a los tratamientos tradicionales, como el fluconazol. Es por esto que se decide investigar

más a fondo el efecto antifúngico del aceite esencial de orégano, el cual en una investigación realizada titulada “Efecto antibacteriano in vitro del carvacrol (aceite de orégano) sobre *Candida albicans*.” reportó una CMI de 100%, permitiendo usarse como nueva fuente de tratamiento para dicha patología y de esta manera diversificar los tratamientos farmacológicos actuales. (Quintanilla, 2016, p.36)

Para desarrollar la presente investigación se formula la siguiente pregunta ¿Presenta el aceite esencial de orégano efecto antifúngico in vitro sobre cepas de *Cándida albicans*?

### **Hipótesis**

El aceite esencial de orégano presenta actividad antifúngica sobre cepas de *Cándida albicans*.

## Objetivos

### Objetivo General

Demostrar el efecto anti fúngico del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) sobre cepas de *Cándida albicans*.

### Objetivos específicos

Realizar una extracción del aceite esencial de orégano mediante el método de arrastre con vapor en el laboratorio de la Universidad Internacional de las Américas.

Identificar los principios activos presentes en el aceite esencial.

Evaluar la actividad antifúngica del aceite esencial de *Origanum vulgare* (Orégano) en el crecimiento in vitro de *Cándida albicans*, por medio del método de Kirby- Bauer o medición de los halos de inhibición.

Comparar la efectividad del aceite esencial frente a cepas de *Cándida albicans* con los antimicóticos clotrimazol, nistatina y terbinafina.

Elaborar una crema a partir del aceite esencial de Orégano.

## Justificación

Es de gran conveniencia poder realizar la presente investigación, ya que con esto se pretende mejorar los problemas de resistencia farmacológica que presenta el hongo *Cándida albicans* frente a los medicamentos actuales que están al alcance de la población para tratarlo.

Con dicha investigación la principal relevancia social es que se pretende dar un aporte al campo farmacéutico del país, demostrando la eficacia que presenta el aceite esencial de orégano sobre cepas de *Cándida albicans* y con esto poder desarrollar algún medicamento que ayude en el tratamiento de la candidiasis, donde se beneficiarán los pacientes a los que el tratamiento tradicional no les ha hecho el efecto esperado principalmente por la presencia de alguna resistencia a dicho 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, a pesar de los buenos resultados con antifúngicos azólicos, existen diversas formas clínicas resistentes al tratamiento con ketoconazol, fluconazol e incluso anfotericina B11,12,13, todos estos antifúngicos conocidos. (Quintanilla, 2016, p.34)

Tal y como lo indica el autor, se da énfasis al aceite esencial de orégano como tratamiento en infecciones por *Cándida* en pacientes inmunosuprimidos.

La principal implicación práctica en esta investigación es que se pretende minimizar el número de pacientes que han presentado una resistencia al tratamiento anti fúngico tradicional y con esto que se les pueda informar sobre el uso de un tratamiento cuyo origen provenga de un aceite esencial de un producto de origen vegetal y que sea de gran eficacia y calidad.

El aumento de infecciones oportunistas en la estomatitis subprotésica (ESP), principalmente en pacientes inmuno comprometidos, la aparición de algunas cepas de microorganismos resistentes a los antimicrobianos y antimicóticos usualmente utilizados ha generado el interés en investigaciones dirigidas a los agentes fitoterapéuticos por las mínimas reacciones farmacológicas que presenta, teniendo incluso mayor potencial farmacológico que los productos de origen sintético. (Villavicencio et al, 2016, p.6)

Como lo mencionan los autores la resistencia a los tratamientos tradicionales para la candidiasis ha ido en aumento en los últimos años, es por esto que se buscan otras alternativas de tratamiento.

El principal valor teórico que se desea rescatar es el aporte al país y a futuras investigaciones en las que se desee ampliar el uso de los medicamentos de origen natural en el tratamiento de infecciones provocadas por candidiasis y de esta manera poder ampliar el conocimiento en el campo farmacéutico y médico sobre nuevos tratamientos y que presenten una resistencia menor o casi nula.

El orégano es una planta aromática originaria de Asia, muy utilizado en la actividad culinaria, cosmética y farmacéutica,

contiene aceites esenciales, cuyos metabolitos secundarios como carvacrol y timol, tienen altos niveles de actividad antimicrobiana y antimicótica, siendo el timol el más activo. (Villavicencio et al,2016 p.6)

El autor menciona en lo anterior el efecto que presenta el componente principal del aceite esencial de orégano.

Una utilidad metodológica de esta investigación sería el basar las investigaciones en un estudio más práctico donde se pueda comprobar por medio de pruebas microbiológicas la utilidad de los aceites esenciales en el campo de la salud y con esto ampliar los métodos de análisis y además de poder estudiar mejor las enfermedades presentes en la población que la padece. Además,

Otros microorganismos como *Acinetobacter baumannii*, *Aeromonas veronii* biogroup *sobria*, *Candida albicans*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serotype *typhimurium*, *Serratia marcescens* and *Staphylococcus aureus*, se han logrado inhibir gracias a la presencia de extractos de orégano (2% v/v). (Arcila,Loarca et al, 2004, párr.20)

Haciendo énfasis en los beneficios que han demostrado los extractos del aceite esencial de orégano al inhibir ciertos tipos de microorganismos que causan enfermedades en la población, es por esto que se buscan nuevas opciones de tratamiento.

## Antecedentes

En este capítulo se pretende dar a conocer las investigaciones que se han realizado tanto a nivel internacional como a nivel nacional sobre el efecto que se ha demostrado del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) sobre cepas de *Candida albicans* y que fueron de gran importancia para el descubrimiento del efecto antifúngico que presenta este aceite sobre dicho hongo; así como los beneficios de estas investigaciones para el campo de la salud. Tomando como base de datos las encontradas en la Universidad de Costa Rica, Scielo y Google académico.

Primeramente en el año 2004 en México, Arcila, Loarca, Lecona y González publicaron un artículo; en el cual mediante un enfoque cualitativo se estudió el método de extracción del aceite esencial de orégano y como la calidad de este se puede ver afectado por el origen del material más que por el medio ambiente, mientras que otros autores indicaban que se veía más afectado por las condiciones del medio ambiente al cual estaba expuesto el cultivo; ya sea por la cantidad de luz, riego que recibía, así como la estación del año en la que se realizó el corte del cultivo. La principal conclusión que se destacó es que el orégano presentó un gran potencial antioxidante, así como bactericida e insecticida lo cual promovía un mejor aprovechamiento de dicho cultivo para su uso en la salud.

Seguidamente en el 2005 se realizó una segunda investigación en Alemania elaborada por Mavor, Thewes y Hube en la que indican que especialmente la especie de *Candida albicans* es de gran amenaza para los pacientes inmunosuprimidos ya que al ser un hongo oportunista puede causar infecciones en las mucosas y la piel. Además, resaltan que la candidiasis se asocia con un gran número de mortalidades por infecciones en el torrente sanguíneo. Como principal conclusión se destaca la gran importancia que presenta *Candida albicans* en la salud de las personas y el gran

número de infecciones mortales que causa; es por esto que los autores pretenden utilizar la tecnología para desarrollare nuevos y mejores medicamentos para tratar esta infección.

A nivel internacional se han realizado muchas investigaciones del uso del aceite esencial de orégano sobre cepas de *cándida albicans*, así como los beneficios que tiene dicho aceite sobre la salud humana. Además, se ha investigado sobre el hongo del tipo cándida y se ha logrado obtener información sobre las posibles causas de dicho hongo y el uso de la tecnología para el desarrollo de nuevos y mejores medicamentos para el tratamiento de dicha patología.

En México en el año 2007, Rivas ,en su investigación la cual tuvo un enfoque cuantitativo, para demostrar la concentración mínima inhibitoria (CMI) necesaria de aceite esencial de orégano sobre cepas de cándida, y de este modo este hongo no mostrara cambios en su crecimiento y así demostrar el efecto antifúngico de dicho aceite obtenido por el método de cromatografía usando helio, hidrógeno y aire cero como gases acarreadores, mediante su efectividad y pureza.

En 2010 en la Universidad Federal de Río Grande do Sul, en Brasil Brum, Meinerz, Xavier, Schuch, Araújo, Alves y Braga realizaron una investigación, en la que se plantearon como objetivo evaluar la actividad in vitro del aceite esencial extraído de *Origanum vulgare* contra dieciséis aislados de especies de *Candida*, para lograr dicho objetivo utilizaron la metodología de microdilución en caldo (CLSI) y la concentración del inóculo se ajustó a  $5 \times 10^6$  CFU mL<sup>-1</sup>. El aceite esencial se obtuvo por hidrodestilación en un aparato Clevenger y se analizó por cromatografía de gases, además la susceptibilidad se expresó como Concentración Inhibitoria Mínima (MIC) y Concentración Mínima Fungicida (MFC). Las principales conclusiones son que todos los aislamientos probados in vitro fueron sensibles al aceite esencial de *O. vulgare*. La

actividad antifúngica del aceite esencial de *O. vulgare* contra *Candida* spp. observado in vitro sugiere que su administración puede representar un tratamiento alternativo para la candidiasis.

Flores, Hernández, López, Valenzuela, Martínez y Madinaveitia en México en 2011, evaluaron la producción y extracción del aceite de este cultivo bajo dos métodos y tres diferentes grados de humedad, para esto se utilizaron seis muestras para grado de humedad y un blanco. Obteniendo como resultados un mayor rendimiento de aceite esencial en el método de arrastre por vapor por encima del método tradicional de cocción. La conclusión que más se destacó es que el orégano bajo cultivo resultó superior en producción de follaje y parte útil de la planta, así como en el contenido de aceite, en comparación con el tipo silvestre.

En el año 2012, Maraví en Perú, formuló la siguiente pregunta ¿Existirá 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 *Cándida albicans* ATCC 90028?; la que además tuvo como objetivo determinar el efecto antibacteriano y antifúngico in vitro del aceite esencial de: *Menta piperita* (menta), *Origanum vulgare* (orégano) y *Cymbopongon citratus* (hierba luisa). La obtención de dichos aceites esencial se logró mediante el método de arrastre por vapor, obteniendo como resultado un efecto mayor del aceite esencial de orégano sobre *streptococcus mutans* con respecto a los otros dos microorganismos. Se concluye en dicha tesis que el aceite esencial de orégano y de hierba luisa son los que presentan mayor actividad antibacteriana y antifúngica.

Más adelante en el año 2013, Delicl, Skrobonja, Karamanl, Matavuljl y Bogavac realizaron un estudio en serbia, en la que se planteó como objetivo comparar el efecto antifúngico del aceite esencial de *Origanum vulgare* y *Rosmarinus officinalis* contra nistatina y fluconazol frente a tres cepas de *Cándida albicans*. Como metodología se utilizó la medición de los diámetros de los halos

de inhibición, así como el uso del ensayo microdilución para detectar la concentración mínima inhibitoria. Finalmente se concluyó que los aceites esenciales de orégano y romero podrían ser altamente efectivos en el tratamiento de prevención natural de la candidiasis; sin embargo, *O. vulgare* fue el que demostró un efecto antifúngico más fuerte contra todas las cepas de *C. albicans*.

En el 2015 en Ecuador, la estudiante Chamba realizó una investigación, la cual tenía como objetivo determinar el efecto antifúngico de los aceites esenciales de las plantas aromáticas, *Origanum vulgare* (Orégano) y *Cymbopogon citratus* (Hierba Luisa) sobre cepas de *Cándida albicans* en comparación con la nistatina y para esto se planteó las siguientes preguntas; ¿Existe un efecto antifúngico del aceite esencial de *Cymbopogon Citratus* (hierba luisa) y el *Origanum vulgare* (orégano) sobre *Cándida albicans* y si existe cuál de ellos presenta mayor efecto antifúngico tanto en su concentración pura como diluidas ?. Se utilizó el método de arrastre por vapor para la extracción de los aceites esenciales y se obtuvo como resultado que ambos aceites presentan mayor acción inhibitoria frente a cepas de *cándida albicans*. La principal conclusión fue que ambos aceites tuvieron una mayor efectividad de capacidad inhibitoria frente a cepas de dicho hongo.

Villavicencio, Moromi, Salcedo, Pineda, Ramos, Zambrano, Martínez, Mendoza, Petkova y Bardales en el año 2016, en Perú realizaron una investigación titulada “Efecto Antimicótico in vitro de *Origanum vulgare* sobre cepas de *Cándida albicans* cuyo objetivo era Evaluar el efecto antimicótico in vitro de aceite esencial de *Origanum vulgare*, sobre cepa de *Candida albicans* ATCC 1023”, para esto recurrieron a una metodología de la elección de cuatro diferentes geotipos de orégano a los cuales se les extrajo el aceite esencial por medio del método de arrastre por vapor con agua, se determinó la composición química de los mismos por medio de cromatografía de gases y espectrofotometría de masas. Además, se determinó la actividad

antimicótica del aceite esencial por medio de pruebas de sensibilidad de difusión de discos en el agar frente a *Cándida albicans*. Los principales resultados obtenidos fueron que los aceites esenciales mostraron una actividad antimicótica en una concentración del 12,5%; se destacó como principal conclusión que el aceite esencial de orégano sí presenta actividad antimicótica y se podría utilizar como fuentes farmacológicas para dicho hongo.

En el año 2016, en Perú, Quintanilla realizó una investigación; la cual tuvo como objetivo determinar el efecto antifúngico del aceite esencial de orégano (carvacrol) sobre cepas de *Cándida albicans*. Se utilizó como metodología la obtención del aceite esencial del orégano y mediante el método de difusión de discos se obtuvo la concentración mínima inhibitoria; los principales resultados que se obtuvieron fue que la concentración mínima inhibitoria para la actividad antifúngica fue del 100%. Como principal conclusión se rescató que el componente del aceite esencial de orégano carvacrol sí presenta actividad antifúngica sobre cepas de *Cándida albicans*.

Colpa en Perú, en el año de 2016; realizó un estudio cuyo objetivo fue determinar el efecto inhibidor del aceite esencial de *Origanum vulgare* y *Mentha piperita* en comparación a la nistatina frente a cepas de *Cándida albicans*. Se utilizó una metodología de extracción del aceite esencial y se prepararon las placas de cultivo y se midieron los halos de inhibición de las cepas de los hongos, el principal resultado que se obtuvo es que el aceite esencial de orégano presentaba un halo mayor que la nistatina y la menta frente a las cepas de *Cándida albicans* por lo que se concluyó que el carvacrol, componente de dicho aceite esencial, sí presenta actividad antifúngica frente a las cepas del hongo mencionado anteriormente.

En el año 2016 en la Universidad del Piemonte Orientale en Italia, Bona et al desarrollaron una investigación en la cual se plantearon como objetivo evaluar la sensibilidad de 30 diferentes cepas aisladas de vagina de *C. albicans* a 12 aceites esenciales, en comparación con las tres

principales drogas usadas (clotrimazol, fluconazol e itraconazol); la metodología utilizada consistió en aislar treinta cepas de *C. albicans* de torunda vaginal en CHROMagar™ Cándida, además se empleó la difusión en disco de agar para determinar la sensibilidad a los aceites esenciales. La actividad antifúngica de los aceites esenciales y medicamentos antifúngicos (clotrimazol, itraconazol y fluconazol) se investigó a través de un método de microdilución. Se concluyó que *Cándida albicans* es más sensible a diferentes aceites esenciales en comparación con los principales medicamentos usados, además, se demostró que el aceite esencial afecta principalmente a la pared celular y las membranas de la levadura.

En la Universidad Ibn Tofail en Marruecos en el 2016, Lakhrissi; Boukhraz; Barrahi; Hartiti y Ouhssine llevaron a cabo una investigación, se planteó como objetivo evaluar la actividad antifúngica de aceites esenciales extraídos de dos plantas y la sinergia de estos dos aceites esenciales contra *Cándida albicans*. La metodología utilizada consistió en destilación hidráulica en un aparato de tipo Clevenger para la obtención de los aceites esenciales, se utilizó un método de difusión en gélose Sabouraud para poder determinar su poder antifúngico. Para finalizar, las conclusiones planteadas fueron las siguientes: se obtuvo un rendimiento de 2,50% y 2,34% para los aceites esenciales de mejorana y orégano respectivamente, además, mostraron una fuerte actividad antifúngica contra la cepa fúngica *Cándida albicans*, sin embargo, la zona más grande de inhibición de la cepa *Cándida albicans* es observada por el aceite esencial de *Origanum vulgare* (30 mm).

En el año 2017, en Ecuador; Sánchez y Rázuri realizaron una investigación para optar por el título de Químicos y farmacéuticos la cual titularon “ Obtención de aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare* L.) cultivado en la costa ecuatoriana y su evaluación como fitofármaco” para

lo cual se utilizó una metodología de la obtención del aceite por hidrodestilación mediante destilaciones sucesivas y se realizó la caracterización química por medio de cromatografía de gases y espectrometría de masas. Se obtuvo como principal resultado un alto nivel de carvacrol y como principal conclusión que el aceite esencial de orégano funciona como un fitofármaco por su alta efectividad.

Valverde y Palacios en el año 2017, en Ecuador realizaron una investigación que 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 *Cándida albicans*. Se el aceite esencial de orégano por medio de arrastre por vapor, se determinó su efectividad mediante el conteo de unidades formadoras de colonias; como principal resultado se obtuvo una gran eficacia del aceite esencial de orégano en comparación con la nistatina frente a las cepas de *Cándida albicans*. Finalmente, se concluyó que los oréganos obtenidos de las provincias de Chimborazo y Santa Elena muestran una eficacia antimicótica frente a cepas de *Cándida albicans*.

Palhano et al en el 2017 en Brasil llevaron a cabo una investigación, en la cual el objetivo fue analizar la actividad antifúngica del aceite esencial frente a cepas de *Cándida albicans* de sujetos que utilizan prótesis dentales. La metodología utilizada consistió en comparar el aceite esencial de orégano con la nistatina frente a cepas del hongo en estudio, para esto se determinó la concentración mínima inhibitoria y la concentración mínima fungicida. Como resultados se obtuvo que la CMI y la CMF fue de 32ug/mL, demostrándose, además, una resistencia de las cepas a la nistatina con respecto al aceite esencial; frente a este último se mostró una reducción en el crecimiento de las cepas, y el tiempo de muerte fue cada vez menor. Como principal conclusión se rescata que el aceite esencial es un potencial antifúngico, además que se demostró la resistencia de las cepas a la nistatina.

A nivel nacional se buscó información sobre el tema de esta investigación en diferentes universidades tanto públicas como privadas en las cuales se imparte la carrera de licenciatura en farmacia como lo son Universidad de Ciencias Médicas (UCIMED), Universidad de Iberoamérica (UNIBE), Universidad Latina de Costa Rica y la Universidad de Costa Rica (UCR). Sin embargo, únicamente se obtuvo información en la UCR, la cual será detallada a continuación.

En el año 2016, Acón realizó una investigación en la Universidad de Costa Rica para optar por el grado de Licenciatura en Ingeniería de Alimentos; titulada “Evaluación del efecto antioxidante y antimicrobiano del orégano (*Origanum vulgare*) en polvo y en oleorresina y de la mostaza china (*Brassia rapa var. Perkinensis*) en polvo, como alternativa natural en productos cárnicos”; en la cual evaluó en polvo y por medio de la obtención del aceite esencial (oleorresina) por medio del método de arrastre por vapor de las plantas evaluadas; obteniendo como principal conclusión que solamente el orégano en sus dos presentaciones es un potencial antioxidante para los productos cárnicos y además que el orégano en polvo presenta tanto actividad antioxidante como antimicrobiana.

Según los estudios realizados que serán de gran importancia durante el desarrollo de esta tesis, para estudiar los distintos métodos utilizados para la obtención del aceite esencial de orégano y poder determinar si dicho aceite presenta potencial efecto antifúngico frente a las cepas de *Cándida albicans*; pudiendo enfocar el área de la farmacia a una inclusión de los aceites esenciales como potenciales fármacos para la cura de dichas patologías, aumentando así los fármacos disponibles hoy en día. Además, se pretende provocar gran interés en los profesionales farmacéuticos para investigar nuevos productos que se encuentran en la naturaleza y de esta forma

promover el desarrollo de medicamentos más modernos, sin olvidar conservar la eficacia y seguridad de estos.

### **Proyecciones**

Dentro de las proyecciones que se pretenden con esta investigación se destacan:

Publicar la presente investigación en una revista científica, de fitofarmacología de circulación nacional e internacional para que esté al alcance de la población farmacéutica.

Promover la realización de productos farmacéuticos a base de productos que brinda la naturaleza y de esta manera diversificar los tratamientos para las enfermedades con los que se cuenta actualmente.

Realizar simposios o charlas que sirvan para ampliar el conocimiento de los estudiantes y profesionales en farmacia.

Motivar la realización de investigaciones experimentales como esta, para conocer los aportes que brindan los compuestos que se encuentran en la naturaleza.

## **CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO**

En el presente capítulo se definen conceptos importantes para comprender en profundidad el tema en estudio, así como poder fundamentar el análisis de los resultados. Para esto se realizó una revisión bibliográfica en diferentes fuentes de información.

### **Generalidades de la piel**

#### **Anatomía de la piel**

La barrera epitelial es la frontera límite que tienen los organismos multicelulares frente al ambiente que los rodea, siendo la piel y las mucosas las superficies que cubren las funciones primordiales de mantener la integridad orgánica del individuo y de proteger la estabilidad de su medio interno. El epitelio de la superficie externa se prolonga en el interior de las cavidades húmedas transformándose en mucosas y conjuntivas para cumplir con las mismas funciones de relación, contacto e intercambio con el ambiente. Estos recubrimientos epiteliales tienen características comunes:

1. Son superficies expuestas a todas las agresiones e intercambios con el exterior.
2. Son las capas celulares de revestimiento de las superficies.
3. Separan compartimientos unos de otros.
4. Están formados por células adheridas entre sí.
5. Tienen escasa sustancia extracelular.
6. Tienen capacidad para secretar diferentes compuestos.
7. Un aspecto muy importante desde el punto de vista quirúrgico es que, aunque están nutridos e inervados, carecen de vasos sanguíneos. (Hierro y Archundía, 2013, p.355)

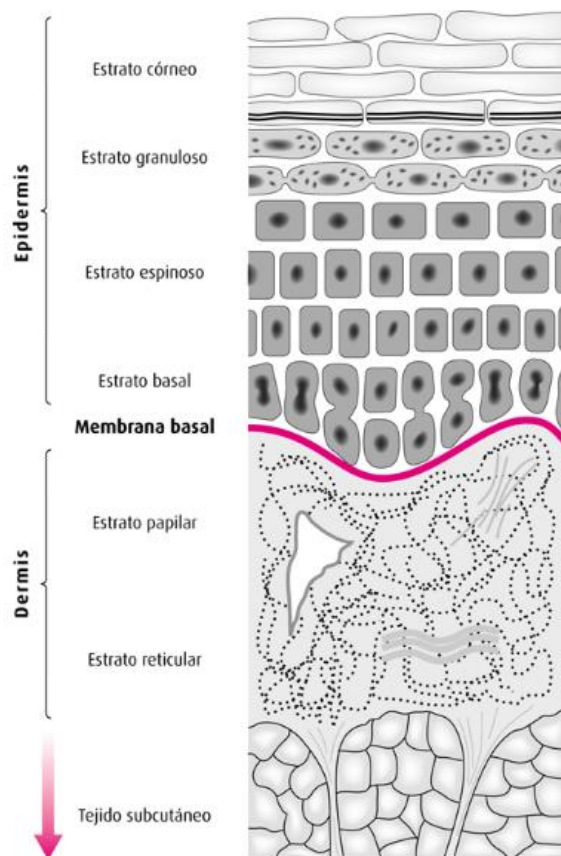
Además, indican que los vasos sanguíneos por lo general no penetran en los epitelios, la nutrición del epitelio depende de la difusión de los nutrientes gracias a su contacto con el tejido conjuntivo subyacente que sí está vascularizado. Entre estas dos capas o tejidos se encuentra la membrana basal, que debe ser atravesada por los diferentes compuestos nutritivos para alcanzar a las células epiteliales. Por ello se insiste en que los epitelios son avasculares y están inervados por

terminaciones nerviosas libres. Las células de algunos epitelios de revestimiento (y entre ellos está la piel), también cumplen una función sensorial. (Hierro y Archundía, 2013,p.355)

El origen embriológico de la piel es doble: la capa superficial, llamada epidermis, proviene del ectodermo superficial; la capa profunda, la dermis, se desarrolla a partir del mesodermo; por tanto, tienen características diferentes, aunque dependan una de la otra.

La piel del adulto está constituida por tres capas superpuestas, que de la superficie a la profundidad son: epidermis, dermis e hipodermis o tejido graso subcutáneo. Además de anexos cutáneos: unidad pilosebácea; glándulas ecrinas; glándulas apocrinas y uñas.

**Figura 1. Anatomía de la Piel**



Nota: Hierro y Archundia, (2013)

## Epidermis

Es la capa externa no vascularizada de la piel y está formada de la profundidad a la superficie por las cinco capas del epitelio: la capa basal o estrato basal, estrato espinoso, capa granulosa, estrato lúcido y estrato córneo.

El autor Amado, (2015, p.37), hace referencia a los cuatro estratos de los que está compuesta la epidermis:

1. **Estrato basal o germinativo.** Está constituido por una sola hilera de células cilíndricas, de núcleos basófilos, dispuestas perpendicularmente a la dermis, con frecuentes mitosis y en constante reproducción. Las células basales reciben irrigación e inervación de los vasos y nervios de las papilas dérmicas y 50% de la población, hija de cada división, contribuye al desarrollo de la epidermis. Suele observarse en esta capa células del citoplasma las cuales corresponden a los melanocitos.

Es aquí donde se ha identificado la localización de las células madre epidérmicas las cuales procuran la regeneración, reparación y mantenimiento de la piel; otros sitios donde se han identificado células madre, es en el sitio de anclaje del músculo erector al infundíbulo folicular y en la base de las glándulas sebáceas.

2. **Estrato espinoso.** Está formado por varias capas de células poliédricas, dispuestas en mosaico, que tienen como característica especial llevar en su citoplasma unas fibrillas de pared a pared llamadas tonofibrillas, que a nivel de la membrana parecen condensarse y formar un puente de célula a célula, llamado desmosoma. Se pensaba que las tonofibrillas pasaban de célula a célula a través de estos puentes, pero no es así, y los desmosomas están formados por un material electrodensito que parece condensarse y formar los llamados nódulos de Bissosero. Los desmosomas dan cohesión a la epidermis, se observan en todas las capas, al igual que las tonofibrillas, pero son más evidentes en la capa espinosa; cuando se destruyen, las células se separan y sufren importantes alteraciones, proceso conocido como acantolisis. Las células espinosas también se unen a las basales por desmosomas y las basales presentan en su cara profunda hemidesmosomas, que sirven para anclarse a la dermis. Las células espinosas también contienen estructuras ovales, laminadas, cubiertas por una membrana conocida como cuerpos de Odland, que contienen grandes cantidades de lípidos y enzimas hidrolíticas.

El término de “estrato mucoso de Malpighi” se utiliza para definir el conjunto de estrato basal y estrato espinoso.

3. **Estrato granuloso.** A medida que las células se acercan a su superficie se aplanan y cambian su dirección, de perpendiculares en la capa basal se hacen horizontales en las capas granulosa y córnea, paralelas a la superficie. Aparecen dentro de estas células gránulos de material basofílico llamado queratohialina, que se piensa es el precursor de la queratina.

Los queratinocitos contienen diversos tipos de microfilamentos, como los de actina, tubulina y filamentos intermedios, el más importante es la queratina; esta última es específica para diferentes tipos de piel y anexos (pelo, uñas, piel palmoplantar). Se ha identificado que además de su importante función estructural, la queratina también participa en las señales intracelulares, la respuesta al estrés, la apoptosis y la respuesta a heridas.

4. **Estrato córneo.** Variable en su espesor desde 0.02 hasta 5 mm en las plantas, está constituido por hileras de células muertas, aplanadas, sin núcleo y llenas de tonofibrillas con alta concentración de grupos disulfuro: la queratina. Se distinguen dos partes, la más profunda o compacta conserva aún los desmosomas, y la más superficial (estrato disjuntum), en donde se rompen los desmosomas y las células se desprenden.

Es en este nivel donde se encuentra un importante mecanismo de barrera cutánea: la formación de la envoltura cornificada, la cual es impermeable y está constituida por diversas proteínas como la involucrina, loricrina, cornifina, profilagrina y diversas proteínas de la familia de las plaquinas. Junto con diversos ácidos grasos como fosfolípidos, glucolípidos, esteroides y ceramidas, contenidos en los cuerpos lamelares (queratinosomas o cuerpos de Odland) se contribuye así a la barrera cutánea que mantiene la hidratación de la piel.

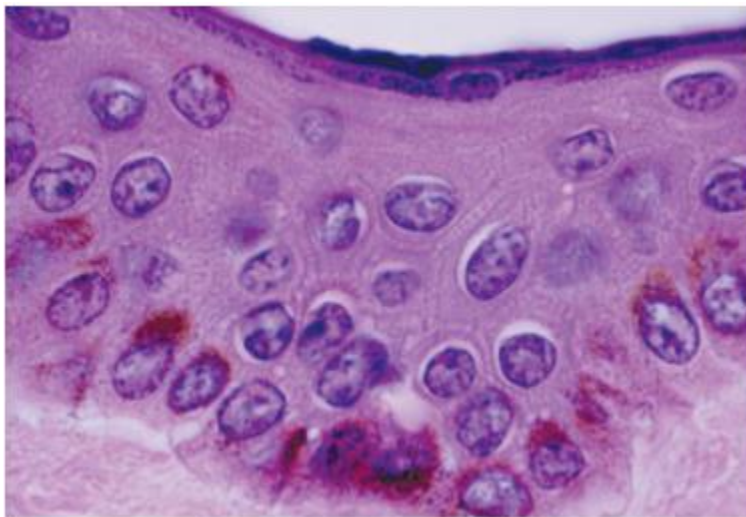
### **Células de la epidermis**

Tal y como lo indica Amado, (2015, p.38), la epidermis está compuesta por una serie de células de gran importancia las cuales se mencionan ampliamente a continuación.

## Melanocito

Es una célula dendrítica derivada del neuroectodermo que emigra a la capa basal de la epidermis. También puede encontrarse en el sistema nervioso central, en la retina, en el órgano coclear y en el aparato digestivo, pero el número mayor está en la epidermis. Se observan de trecho en trecho entre las células basales. Estas células reciben el nombre de “células claras de Masson”, sobre todo cuando se observan en piel no pigmentada, son dopapositivas y contienen un pigmento oscuro llamado melanina. Tienen un protoplasma claro, su núcleo es pequeño, oscuro y rodeado por los gránulos de pigmento. Sus prolongaciones dendríticas se insinúan entre los queratinocitos y distribuyen los gránulos de melanina en la epidermis. La tinción especial que se utiliza es a base de sales de plata o bien mediante la técnica de dopa. Se calcula su proporción de un melanocito por cada cuatro a 10 queratinocitos basales según la topografía de la piel.

**Figura 2. Melanocito con Gránulos de Melanina**



Nota: Amado, (2015)

## Células de Langerhans

También son células dendríticas, semejantes a los melanocitos, pero sin pigmento, se evidencian con coloraciones a base de sales de oro y se encuentran en número variable entre los queratinocitos, y también en la dermis. Su núcleo es lobulado, su citoplasma claro, presentan un

retículo endoplásmico y un aparato de Golgi bien desarrollado, pero lo característico de estas células es la presencia en el citoplasma de formaciones similares a raquetas (gránulos de Birbeck) que representan un subdominio del retículo endoplásmico donde se acumula la proteína langerina.

Por algún tiempo se pensó que estas células eran melanocitos degenerados, pero en la actualidad se sabe que son células inmunocompetentes derivadas de la médula ósea con funciones sobre todo en la hipersensibilidad retardada y en reacciones de la piel a cuerpos extraños, pero también parecen participar en otros procesos cutáneos como la psoriasis, ictiosis, vitíligo e infecciones de la piel. Aún no se aclara del todo el funcionamiento de estas células del sistema fagocítico mononuclear (Amado, 2015, p.38).

### **Células de Merkel**

Son células no queratinocíticas que se han encontrado en la capa basal de la piel de mamíferos, sobre todo en piel con pelo terminal, áreas táctiles glabras, piel perianal y labial. Tienen una función como mecanorreceptores y están involucradas en la percepción de sensaciones táctiles. Con microscopía electrónica se ha identificado en su interior una gran cantidad de gránulos neurosecretores y la asociación de las células de Merkel con terminaciones nerviosas; sin embargo, no se ha encontrado transmisión sináptica como tal. También se ha determinado la presencia de filamentos de queratina en el citoplasma de estas células.

La epidermis se deja atravesar por la desembocadura de los folículos pilosos (acrotriquio) y las glándulas sudoríparas ecrinas (acrosiringio) (Amado, 2015, p.38).

### **Dermis**

La dermis está constituida por un armazón de tejido conjuntivo: sostén de vasos, nervios y anexos de la piel. Además, posee estructuras que intervienen en complejas funciones relacionadas con el metabolismo, temperatura, defensa y cicatrización. Está formada por tres clases de fibras, una sustancia fundamental y células.

Las fibras más abundantes son las colágenas formadas por una escleroproteína compleja en cuya formación interviene fundamentalmente la hidroxiprolina y la hidrolisina. El colágeno no es una entidad homogénea, está formado por diferentes subtipos genéticos del I al VII de acuerdo con

su morfología, composición y propiedades físicas. En la dermis predomina el tipo I. Las fibras reticulares y las elásticas son menos abundantes y se mezclan con las fibras colágenas, pero son solo visibles con tinciones especiales (Amado, 2015,p.39)

Las fibras elásticas son de una a tres micras de diámetro, más delgadas en la dermis superficial, y en la dermis papilar forman el plexo de fibras elástica-oxitalán. En conjunto, las fibras y la sustancia fundamental dan resistencia, cohesión y elasticidad a la piel.

Las células que se encuentran en la dermis en escaso número por lo general son de varios tipos: fibroblastos, con núcleo fusiforme y son las que producen en sus ribosomas las fibras colágenas, reticulares y tal vez las elásticas y la sustancia intersticial; asimismo se conoce que tienen funciones de proliferación y migración en respuesta a estímulos quimotácticos, mitogénicos y citocinas, y tienen interacciones paracrinas y autocrinas. Los mastocitos o células cebadas son muy basófilas, tienen granulaciones en su interior y son productoras de histamina, heparina y otros mediadores de la inflamación y células derivadas de la corriente sanguínea, siempre en escaso número en condiciones normales: polimorfonucleares, eosinófilos, plasmocitos, linfocitos (Amado, 2015, p.39).

En la dermis, en ocasiones pueden verse algunos lobulillos de grasa y fibras musculares, como en la piel del escroto, además del músculo erector del pelo que es de fibras lisas (Amado, 2015, p. 39).

La dermis está compuesta por múltiples estructuras de gran importancia, tal y como lo indican los autores Hierro y Archundúa, (2013, p. 356);

1. Colágeno dérmico: se produce por los fibroblastos que se encuentran entre los haces de colágeno y los otros elementos del tejido. Esta proteína da propiedades de elasticidad y fuerza a la piel, así como soporte a las estructuras de la dermis. Éste forma un 70% del contenido de la piel.
2. Folículos pilosos: son invaginaciones tubulares de esta capa de la piel en las que se origina el pelo y en las que las glándulas sebáceas drenan. Estos folículos están cubiertos en su interior por la doble capa derivada de la dermis.

3. Glándulas sebáceas: son pequeños órganos en forma de saco que se encuentran en la dermis. Cada glándula tiene un único conducto que proviene de un grupo de alvéolos ovales, cada uno de ellos está compuesto por una membrana basal transparente que encierra las células epiteliales. Estas glándulas secretan sebo, siendo esto una función muy importante ya que brinda textura, flexibilidad y barrera contra agentes externos dañinos.
4. Glándulas apocrinas: son un tipo de glándulas sudoríparas grandes, ramificadas especializadas que desembocan en la parte superior de un folículo piloso y no directamente sobre la piel.
5. Glándulas ecrinas: son un tipo de glándulas sudoríparas simples que segregan sudor directamente sobre la piel.

## **Hipodermis**

Corresponde al tejido celular subcutáneo formado por adipositos o células grasas que forman lobulillos separados por tabiques de tejido conjuntivo. El tejido adiposo cuenta con múltiples funciones principalmente insulación, amortiguación de traumatismos, comunicación neurológica e inductor de células madre pluripotenciales (Amado, 2015, p.40).

## **Vasos sanguíneos**

Estos componentes vasculares en conjunto con los vasos linfáticos forman plexos; subcutáneo, subdérmico y subcapilar. Los capilares están formados por una simple capa endotelial y rodeados por histiocitos. Del plexo subpapilar parten los capilares arteriales que llegan al fondo de las papilas donde se convierten en venosos de retorno. A partir de estas capilares se realiza la nutrición de la epidermis. El flujo sanguíneo cutáneo tiene gran importancia en la termorregulación (Amado, 2015, p.40).

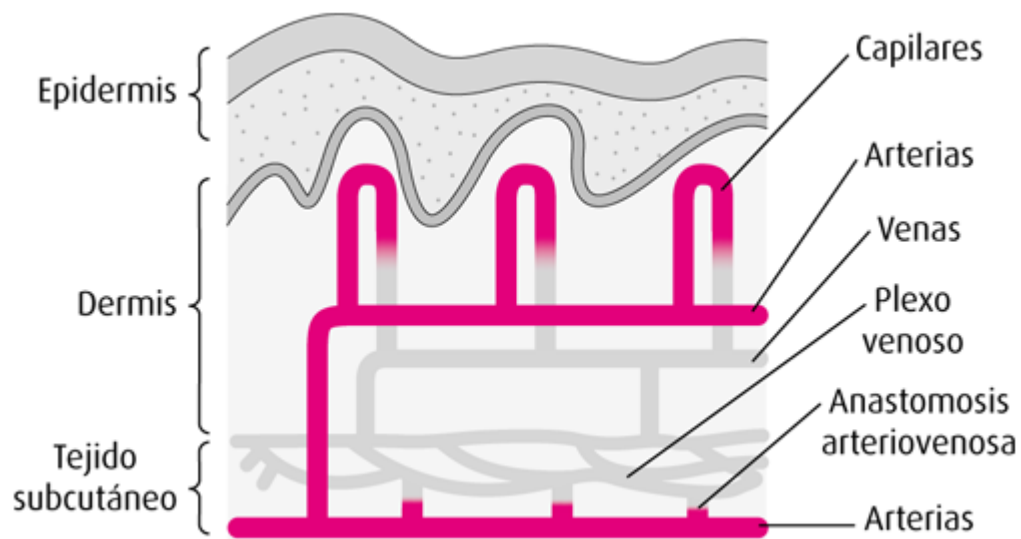
## **Nervios**

La piel al ser un órgano tan sensitivo, cuenta con numerosas terminaciones aferentes, situándose la mayoría en la cara y en la región distal de las extremidades. Las terminaciones libres mielinizadas o no, son de lenta conducción y son las responsables de conducir estímulos térmicos, de dolor y prurito.

Se encuentran los nervios sensitivos, los cuales se pueden clasificar en: corpúsculos de Meissner, de Vater Pacini, de Krause y de Ruffini.

1. Corpúsculos de Meissner: hacen posible la recepción de sensaciones táctiles, se encuentran en los dedos y la cara anterior de los antebrazos.
2. Corpúsculos de Pacini: se relacionan con los estímulos de presión y vibración, son los más abundantes en las palmas, plantas, dorso de los dedos y las regiones genitales.
3. Bulbos de Krause: para mantener el calor en la piel cuando hay temperaturas bajas.
4. Corpúsculos de Ruffini: para controlar la temperatura corporal cuando se está frente a temperaturas muy elevadas (Amado, 2015, p.40).

**Figura 3. Componentes de la Piel**



Nota: Hierro y Archundía, (2013).

### Anexos de la piel

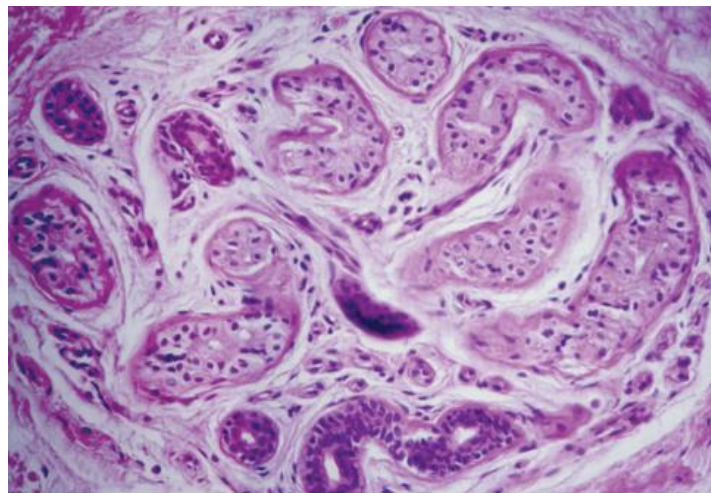
Dentro de las partes que forman los anexos de la piel, se encuentran:

#### 1. Complejo pilosebáceo: formado por:

- **Folículo piloso:** forma un saco fibroso, constituido por una membrana llamada vítrea equivalente a la membrana basal de la unión de la dermis y la epidermis.

- **Pelo:** presenta una parte inferior llamada raíz, que va desde su base hasta la desembocadura de la glándula sebácea, y de este punto a la periferia se llama tallo piloso; en la raíz se distingue una capa llamada vaina epitelial interna que se adosa a la externa del folículo y en su parte inferior se diferencia en dos capas: la de Henle y la de Huxley, después de la vaina epitelial interna sigue la corteza y la médula del propio pelo.
- **Músculo erector del pelo:** conjunto de fibras lisas situadas de forma oblicua desde la papila dérmica hasta la pared del folículo, formando con él un ángulo agudo abierto hacia arriba donde se aloja la glándula sebácea.
- **Glándula sebácea:** la secreción de esta glándula está formada no solo por el producto de las células, sino por las mismas células que se renuevan continuamente, una especie de “sebopoyesis”. Las glándulas son arracimadas, limitadas por una membrana basal, cuya cara interna está tapizada de células cúbicas, basófilas, ricas en glucógeno, las cuales se hacen cada vez más claras, se van llenando de grasa y terminan por caer junto con el sebo que producen.

**Figura 4. Glándula Sebácea**



Nota: Amado, (2015)

2. **Glándulas sudoríparas:** son de dos tipos: ecrinas y apocrinas. Las primeras son muy abundantes, cerca de tres millones en una persona adulta, son voluminosas, cilíndricas,

ligeramente basófilas y situadas sobre una capa de células mioepiteliales que les sirven de sostén. Las apocrinas solo existen en algunas áreas del cuerpo, como axilas, ingles, pliegue interglúteo, región perineal y anogenital, pezones y ombligo.

3. **Uñas:** son una modificación del estrato córneo en la punta de los dedos, son laminillas de células muertas, llenas de queratina dura. (Amado, 2015 , p. 41)

### **Fisiología de la piel**

La piel tiene muchas e importantes funciones que se relacionan con otros aparatos y sistemas, de esta manera si se llegan a alterar pueden producirse importantes cambios en el organismo que pueden ocasionar la muerte.

Dentro de las funciones se pueden nombrar:

1. **Órgano de estética:** la piel es la fachada de las personas, siendo esto lo primero que se presenta a los demás.
2. **Órgano de protección:** la piel es una barrera que protege al individuo de los agentes externos que pueden producir agresiones. El manto ácido que la cubre impide el desarrollo de hongos y bacterias (esterilización espontánea de la piel) y su flora normal impide el desarrollo de bacterias patógenas. Además de ser impermeables producto de la disposición de los lípidos en forma de mosaico, impidiendo la pérdida de agua y permitiendo la hidratación.
3. **Órgano sensorial:** al ser un órgano tan inervado es receptor de sensibilidades de todo tipo tales como tacto, dolor, temperatura, presión, así como los reflejos.
4. **Termorregulación:** la capa córnea, el sebo y el tejido celular subcutáneo son malos conductores del calor y muy buenos aislantes lo que impide pérdidas de temperaturas. Otro mecanismo de termorregulación es a través de la sudoración, la piel responde al aumento de la temperatura ambiental con aumento de la sudoración y vasodilatación. La sangre circula como en un gran refrigerador por la piel y el sudor al evaporarse hace bajar la temperatura de la piel y de esa manera la sangre se enfría.
5. **Metabolismo:** dentro de los procesos metabólicos se pueden mencionar el de almacenar agua e intervenir en su regulación, además, regula los electrolitos y desecha grandes

cantidades de sodio cuando hay pérdidas de agua. Otro aspecto importante es que por medio del sudor se elimina urea y creatinina.

6. **Función queratogena:** la queratina brinda extensibilidad y flexibilidad a la piel, además de ser insoluble y resistente a la acción de enzimas y ácidos.
7. **Función sebácea:** el sebo, producto de las glándulas sebáceas, interviene en la lubricación de la piel y formación del manto ácido, ya que está formado por ácidos grasos libres y combinados y colesterol, con propiedades fungicidas y germicidas.
8. **Función sudorípara:** esta función se relaciona con la termorregulación y también con el metabolismo hidrosalino.
9. **Función melanogena:** la melanina se encarga de dar protección a la piel y tejidos subyacentes contra las radiaciones ultravioleta.
10. **Función inmunológica:** en la piel se valora una buena parte de la inmunidad mediante las pruebas intradérmicas y pruebas de parche, además de medirse la inmunidad mediante la sensibilización al dinitroclorobenceno (Amado, 2015, p.43-44).

### **Plantas medicinales**

Según Mendoza (2008), las plantas medicinales son aquellas que disponen de principios activos o metabolitos que pueden utilizarse en el tratamiento y curación de enfermedades, es bien sabido que el hombre desde la antigüedad ha experimentado con distintos tipos de hierbas para el desarrollo y tratamientos de ciertas patologías. Entre sus principales objetivos se tiene que: busca sintetizar compuestos de estructuras conocidas para producir entidades que sean patentables con mayor eficacia y menos toxicidad, emplearlas como herramientas farmacológicas, o bien, el uso de la planta o partes de ella como remedio medicinal, o bien, como un fitofármaco.

### **Fitofármacos**

La Organización Mundial de la Salud (OMS, 2017) define a los fitofármacos como: *“Productos que se obtienen mediante procesos especializados en el que se emplean materias primas de origen vegetal que tienen como finalidad profilaxis, curación, paliativo o diagnóstico que se caracterizan por el conocimiento de su eficacia y de los riesgos que puede desencadenar su uso, así como la reproductibilidad y constancia de su calidad”*

Tal y como lo indica Hernández (2014, p.78) los fitofármacos son medicamentos cuya sustancia activa contiene el extracto de una determinada planta, a diferencia de un fármaco químico

que proviene de una molécula químicamente sintetizada. Una definición más amplia indica que los fitofármacos son productos medicinales acabados y etiquetados cuyos ingredientes activos estandarizados están formados por partes aéreas o subterráneas de plantas u otro material vegetal, o combinaciones de estos, en estado bruto o en forma de preparaciones vegetales.

### **Fitofármacos y sus efectos terapéuticos**

Según la composición química, los constituyentes activos de las plantas ejercen sus efectos farmacológicos en los organismos que los consumen y pueden clasificarse según su actividad terapéutica, como se muestra a continuación:

- **Amargas:** Son plantas que tienen influencia sobre la función gástrica, sobre todo en casos de inapetencia, por tanto, se consideran aperitivas.
- **Astringentes:** Contienen elevadas concentraciones de taninos que tienen la capacidad para actuar sobre la epidermis o las mucosas; también tienen una acción antiinflamatoria. Algunos ejemplos de estas plantas son arándano, salvia, tormentilla, pulmonaria, corteza de roble y sauce.
- **Carminativas:** Tienen acción anti flatulenta, analgésica y antiinflamatoria. A este grupo pertenecen la manzanilla, el anís, la menta piperita y la salvia, entre otras.
- **Diaforéticas:** Estas plantas facilitan la transpiración y entre ellas se encuentran el gordolobo, sauce negro, manzanilla, fumaria, verónica, ulmaria, etcétera.
- **Diuréticas:** Plantas que estimulan la eliminación de la orina. Son ligeramente desinfectantes y útiles en las afecciones de las vías urinarias, pequeños cálculos y sedimentos en la orina.
- **Vulnerarias:** Poseen también acciones antiinflamatorias y capacidad para acelerar la renovación de los tejidos dañados; ejemplos: manzanilla, meliloto y caléndula (Hernández, 2014, p.78).

## Orégano

### Características

El nombre "orégano" comprende más de dos docenas de diferentes especies de plantas, con flores y hojas que presentan un olor característico a "especioso". Las hojas secas del *Origanum vulgare*, nativo de Europa y del *Lippia graveolens*, planta nativa de México son de uso culinario común. El género *Origanum* pertenece a la familia Lamiaceae, mientras que el *Lippia graveolens*, a la familia Verbenaceae (Arcila et al, 2004, p.1).

Además, el orégano presenta una buena capacidad antioxidante y antimicrobiana contra microorganismos patógenos como *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, entre otros. Existen además algunos informes sobre el efecto antimutagénico y anticarcinogénico del orégano sugiriendo que representan una alternativa potencial para el tratamiento y/o prevención de trastornos crónicos como el cáncer (Arcilla et al, 2004, p.3).

De esta manera el orégano presenta actividades muy importantes que pueden ser de gran utilidad en el campo de la salud, siendo estas de gran interés ya que se pueden prevenir o tratar adecuadamente las enfermedades provocadas por bacterias pudiendo contemplarse como una posible opción de producto farmacéutico innovador para tratarlas.

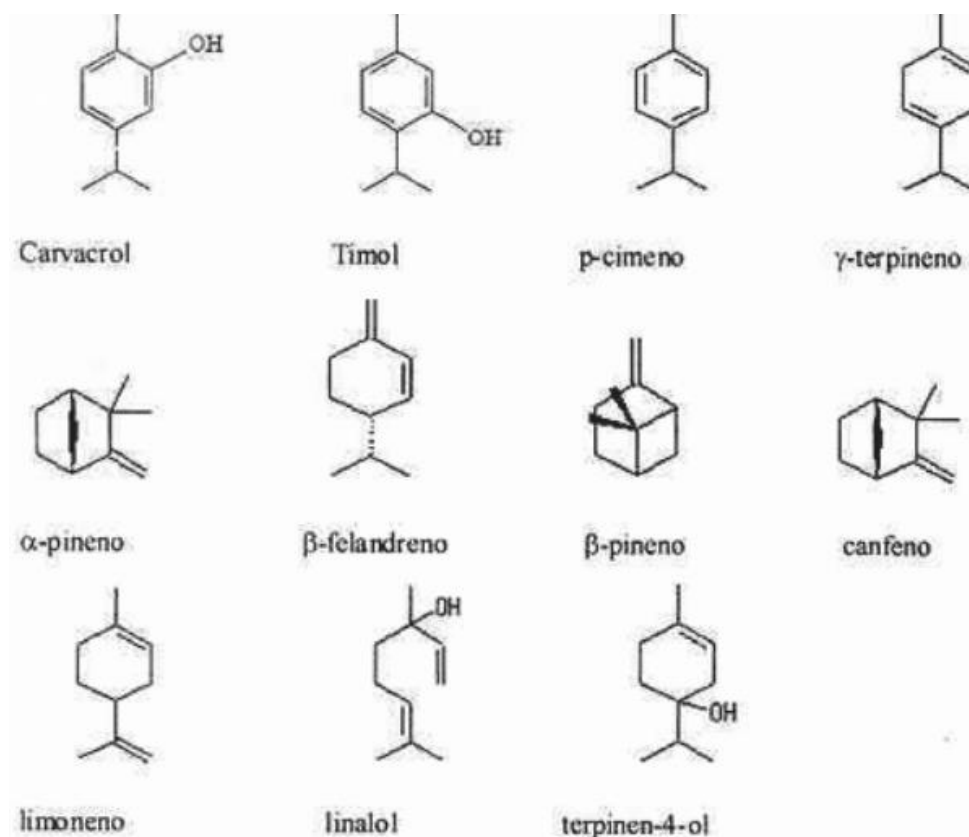
### Composición química

El Orégano vulgare está compuesto por ácidos coumérico, ferúlico, caféico, r-hidroxibenzóico y vainillínico.

Entre las especies de *Origanum* se encuentran como componentes principales el limoneno, el l-cariofileno, el r-cimeno, el canfor, el linalol, el a-pineno, el carvacrol y el timol. En el género *Lippia* pueden encontrarse estos mismos compuestos. Su contenido depende de la especie, el clima, la altitud, la época de recolección y el estado de crecimiento. Algunas propiedades de los extractos

del orégano han sido estudiadas debido al creciente interés por sustituir los aditivos sintéticos en los alimentos (Arcila et al, 2004, p.2).

**Figura 5. Composición Química del Orégano**



Nota: Arcila et al, (2004)

### Componentes del aceite esencial

En el aceite del orégano se ha encontrado la presencia dominante de carvacrol y timol. Los aceites esenciales de especies de *Lippia* contienen limoneno, cariofileno, r-cimeno, canfor, linalol, a-pineno y timol, los cuales pueden variar de acuerdo con el quimiotipo. En extractos metanólicos de hojas de *L. graveolens* se han encontrado siete iridoides minoritarios conocidos como loganina, secologanina, secoxiloganina, dimetilsecologanosido, ácido logánico. También contiene

flavonoides como naringenina y pinocembrina, lapachenol e icterogenina (Arcila y Loarca et al, 2004, p.3).

### **Beneficios de los componentes del aceite esencial**

El aceite esencial de orégano posee actividades; antioxidantes, antimicrobianas, antiparasítica, estrogénica, antigenotóxica e insecticida (Arcila y Loarca et al, 2004, p.3).

**Tabla 1. Actividad Que Presentan Los Géneros Del Orégano**

Actividad	Género
Antioxidante	Origanum
	Lippia
Antimicrobiana	Origanum
	Lippia
Antiparasítica	Lippia
	Origanum
Antiestrogénica	Origanum
	Lippia
Insecticida	Origanum

Nota: Arcila et al, (2004)

### **Efecto antibacteriano**

Dicha acción antimicrobiana se debe al efecto sobre los fosfolípidos de la capa externa de la membrana celular bacteriana, provocando cambios en la composición de los ácidos grasos (Arcila y Loarca et al, 2004, p.7).

### **Método de extracción**

Los métodos convencionales utilizados para la extracción de aceites esenciales son la destilación con arrastre de vapor y el uso de solventes orgánicos (Arcila y Loarca et al, 2004, p.5).

## **Aceites esenciales**

### **Historia de los aceites esenciales**

El término "aceite esencial" se utilizó por primera vez en el siglo XVI por Paracelsus von Hohenheim, quien nombró el componente activo de una droga, "Quinta essential" (Guenther, 1950). A mediados del siglo XX, el papel de los aceites esenciales se había reducido al uso en perfumes, cosméticos y sabores de alimentos, mientras que su uso en preparados farmacéuticos había disminuido (Edris, 2007, p.1).

### **Definición**

Los aceites esenciales son sistemas naturales, complejos y multicomponentes compuestos principalmente de terpenos, además de algunos otros componentes no terpénicos (Edris, 2007, p.1).

Los aceites esenciales son metabolitos secundarios de las plantas por lo que un metabolismo más activo puede asociarse con una mayor producción de aceites. En un aceite esencial pueden encontrarse hidrocarburos alicíclicos y aromáticos, así como sus derivados oxigenados (Arcilla y Loarca et al, 2004, p.5).

### **Composición química**

Tal y como lo indican los autores Arcilla y Loarca et al, en los aceites esenciales pueden encontrarse hidrocarburos alicíclicos y aromáticos, así como sus derivados oxigenados como alcoholes, aldehídos, cetonas y ésteres, sustancias azufradas y nitrogenadas. Además, los compuestos más frecuentes se derivan del ácido mevalónico y se les clasifica en monoterpenoides y sesquiterpenoides (2004, p.3).

### **Métodos de extracción**

Actualmente hay métodos convencionales para la extracción de aceites esenciales como lo es el método de destilación por arrastre de vapor y el uso de solventes orgánicos; sin embargo, en los últimos años ha crecido el interés por la extracción supercrítica y subcrítica con dióxido de carbono como solvente.

Siendo este gas ideal ya que no es tóxico ni explosivo y es fácil de remover de los productos extraídos. En cuanto a su composición se ha logrado identificar hasta 56 compuestos y se han encontrado diferencias cuantitativas significativas en solo dos fenoles isoméricos, carvacrol o fenol no cristalizabile y timol o fenol cristalizabile, incluyéndose sus precursores biosintéticos el p-

terpineno y el p- cimeno. Se ha señalado que con mayor cantidad de carvacrol es el preferido, esto debido a que es el componente que presenta mayor actividad ante *c. albicans*, el timol mayor frente a *p.aeruginosa* (Arcilla y Loarca et al, 2004, p.5).

### **Método de destilación por arrastre de vapor**

En este proceso se lleva a cabo la “vaporización selectiva del componente volátil de una mezcla sólida previamente macerada o triturada para favorecer el contacto entre fases”, para ello, se hace pasar o inyectar vapor de agua directamente en el seno de la mezcla sólida. Esto facilita que el paso del vapor por la mezcla arrastre el componente volátil y posteriormente mediante un sistema de enfriamiento se pase a fase líquida en el cual se tendrá una mezcla inmiscible agua-aceite esencial.

Este método se caracteriza por su bajo costo, sencillo, sin embargo, tiene el inconveniente que requiere de tiempo prolongado y bajos rendimientos por evaporización de los aceites esenciales, a la vez, que hay una alta posibilidad de descomposición por las altas temperaturas del vapor de agua (más de 90°C). Es importante que el componente volátil no sea soluble en agua para evitar la miscibilidad y de esta forma poder separar los compuestos (Martínez, 2016, p.10).

**Figura 6. Instrumentos del Método de Destilación por Arrastre con Vapor**



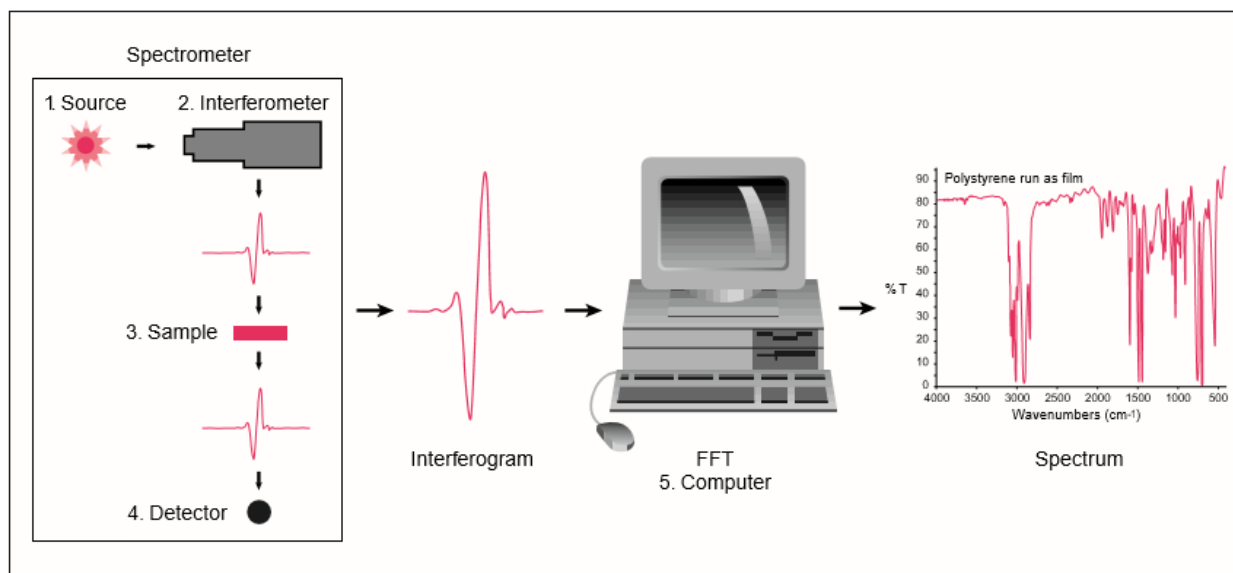
Nota: Lehman, 2015

## Espectroscopía infrarroja

FT-IR significa Fourier Transform InfraRed, espectroscopía infrarroja. En la espectroscopía infrarroja, la radiación IR pasa a través de una muestra. Parte de la radiación infrarroja es absorbida por la muestra y parte de ella es transmitida (transmitida). El espectro resultante representa la absorción y transmisión molecular, creando una huella molecular de la muestra. Al igual que una huella dactilar, no hay dos estructuras moleculares únicas que produzcan el mismo espectro infrarrojo. Esto hace que la espectroscopía infrarroja sea útil para varios tipos de análisis (Thermo Nicolet Corporation, 2001, p.3).

Los instrumentos necesarios para obtener el espectro infrarrojo, se describen a continuación:

- La fuente: la energía infrarroja es emitida desde una brillante fuente de cuerpo negro, este rayo pasa a través de una abertura que controla la cantidad de energía presentada a la muestra.
- El interferómetro: el haz entra al interferómetro, la señal del interferograma resultante sale del interferómetro.
- La muestra: el rayo entra al compartimento de muestra donde se transmite o se refleja a partir de la superficie de la muestra. Aquí se absorben las frecuencias específicas de energía.
- El detector: el haz pasa al detector para la medición final. Los detectores miden la señal del interferograma.
- La computadora: la señal medida se envía a la computadora donde tiene lugar la transformación de Fourier. El espectro final se muestra para la interpretación (Thermo Nicolet Corporation, 2001, p.5)

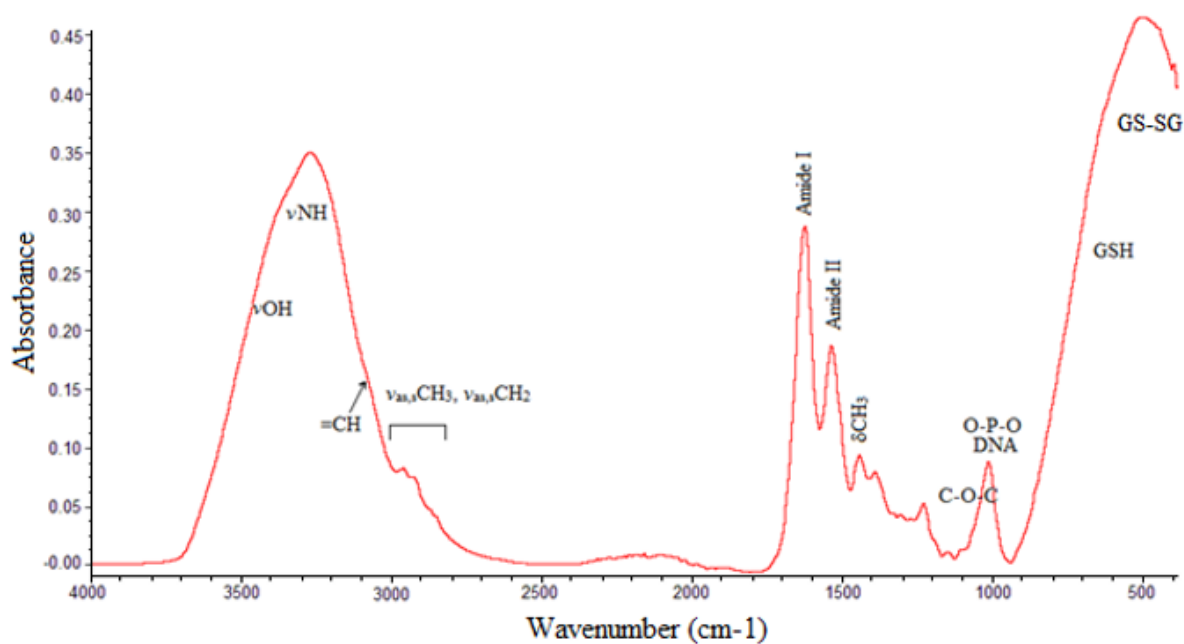
**Figura 7. Componentes del Aparato De Espectrofotometría**

Nota: Thermo Nicolet Corporation, 2001

**Figura 8. Aparato De Espectrofotometría Infrarroja**

Nota: Thermo Nicolet Corporation, 2001

**Figura 9. Ejemplo De Espectro De Infrarrojo Con Algunos Compuestos Orgánicos Señalados**



Nota: Thermo Niclet Corporation, 2001

## **Cándida albicans**

### **Definición**

Se define como un grupo de manifestaciones clínicas causadas por levaduras oportunistas del género *Candida*, en particular *Candida albicans*; pueden ser superficiales o profundas, con afección de la piel, las mucosas u órganos internos, y tener evolución aguda, subaguda o crónica (Arenas, 2015, p.1).

### **Origen**

La candidosis es una de las enfermedades micóticas que se conocen desde la Antigüedad. En su obra *Epidemics*, Hipócrates describió que en niños recién nacidos y en pacientes debilitados se presentaban placas blanquecinas en la boca, a lo que denominó “estomatitis aftosa”. En Francia Veron y Berg en 1835 describieron diversas variedades clínicas del padecimiento, pero no es sino hasta 1844 cuando Bennet, y en 1853 Robin, aislaron el hongo y propusieron de nueva cuenta que la enfermedad es propia de pacientes debilitados. A través de los años, muchos han sido los autores

que han descrito las variedades clínicas de la candidosis y realizados trabajos epidemiológicos. En la actualidad, aún es una de las enfermedades más estudiadas en todos los niveles.

El nombre del agente etiológico ha pasado por diversos géneros y especies; se han llegado a contar hasta 250 sinónimos y acrónimos; entre los más importantes se encuentran *Oidium albicans* y *Monilia cándida*, este último término utilizado hasta 1932 cuando, gracias a los trabajos de Langeron y Talice, quedó clasificada como *Cándida albicans* (Bonifaz, 2015, p.770).

## Taxonomía

**Tabla 2. Taxonomía de Cándida**

Clase	Ascomycetes
Subclase	Hemiascomycetes
Orden	Saccharomycetales
Familia	Saccharomycetes
Género	Pichia, Hansenula, Arxiozyma (estados telemórficos)
Especies	A los estado amórficos se les denomina Candida y los ejemplos son: <i>C. albicans</i> , <i>C. glabrata</i> , <i>C. tropicalis</i> , <i>C.krusei</i> , <i>C. parapsilosis</i> , <i>C. orthopsilosis</i> , <i>C.metapsilosis</i> y <i>C.dublinsiensis</i> . La especie de cándida reportadas con menor frecuencia son: <i>C. ciferrii</i> , <i>C.kefyr</i> , <i>C. lipolytica</i> , <i>C. lusitanise</i> , <i>C.norvegensis</i> , <i>C.rugosa</i> y <i>C. zeylanoides</i> , entre otras.

Nota: Bonifaz, (2015)

## Etiopatogenia

Las levaduras del género Cándida son hongos saprofitos de la naturaleza, así como de las mucosas, el tubo digestivo (24%) y la vagina (5 a 11%) de humanos. La especie más aislada es *C. albicans*, que tiene dos serotipos (A y B); la primera es resistente a anfotericina B y fluconazol y la última está implicada en brotes nosocomiales. Los cambios recientes en la nomenclatura se basan

en los estudios de biología molecular y análisis de isoenzimas. *C. albicans* y *C. stellatoidea* son sinónimos (Bonifaz, 2015, p.770).

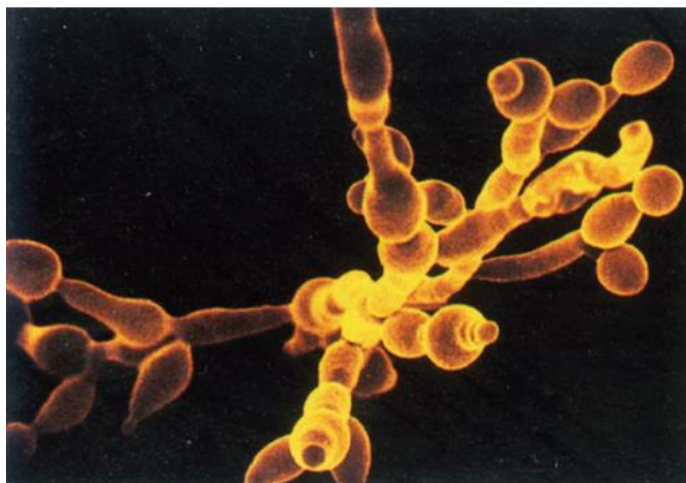
**Figura 10. *Cándida albicans***



Nota: Arenas, (2015)

Las especies de *Cándida* crecen como células de levadura redondas u ovales, con gemación, de 4 a 6  $\mu\text{m}$  en casi todas las condiciones y todas las temperaturas. En ciertas condiciones, incluso las que se encuentran en infección, pueden formar hifas (Ryan y Ray, 2017, p.830).

**Figura 11. Hifas de *Cándida albicans***



Nota: Ryan y Ray, (2017)

*C. albicans* también es capaz de formar hifas, lo que es estimulado por cambios en condiciones como la temperatura, pH y nutrientes disponibles. Cuando se observa en sus etapas iniciales aún unida a la célula de la levadura, estas hifas tienen el aspecto de retoños y se denominan tubos germinales. En la Figura 12 se puede observar la formación de hifas (Ryan y Ray, 2017, p.831).

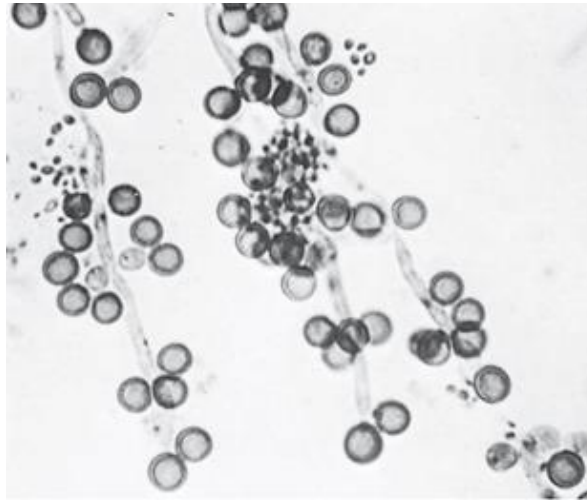
**Figura 12. Formación de Hifas de *Cándida albicans***



Nota: Ryan y Ray, (2017)

Otras formas elongadas con restricciones a intervalos se denominan pseudohifas porque carecen de paredes paralelas y de la tabicación que se observa en las hifas verdaderas. Hay evidencia de que estas tres formas tienen un estímulo y regulación genéticas diferentes, lo que hace de *C. albicans* un hongo polimórfico. A menos que se especifique lo contrario, el término hifas se utiliza para referirse a las hifas verdaderas y pseudohifas. Bajo ciertas condiciones las hifas también desarrollan una clamidoconidia terminal característica, con engrosamiento de la pared (Ryan y Ray, 2017, p.831).

**Figura 13. Formación de Clamidoconidia.**



Nota: Ryan y Ray, (2017)

### **Composición de la pared de *Cándida albicans***

La pared celular de *Cándida* contiene los mismos elementos de quitina y carbohidrato que se encuentran en otros hongos.

La pared celular de *C. albicans* está constituida por una mezcla de polisacáridos de manano, glucanos y quitina sola o en complejos con proteínas. Una capa externa fibrilar se extiende desde la superficie y contiene varias glucoproteínas y complejos de manano con proteínas denominadas manoproteínas. La composición exacta de la pared celular y de los componentes de la superficie varía bajo diferentes condiciones de crecimiento (Ryan y Ray, 2017, p.831).

### **Patogenia**

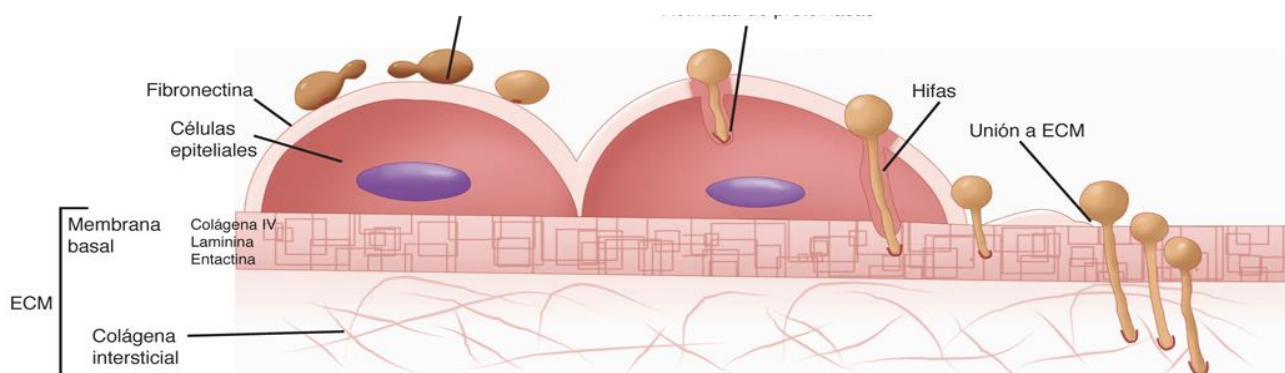
Este hongo por lo general se encuentra presente en superficies mucosas, lo que implica que se deba dar un cambio en la forma de levadura a hifa lo que incrementa el potencial patógeno. Al darse esta modificación se asocia con la posibilidad de invasión, facilitada por condiciones ambientales.

La invasión también se ve aumentada por la capacidad que presentan las hifas de fijarse fuertemente a las células epiteliales, así como la capacidad que presentan de secretar proteinasas y

fosfolipasas capaces de digerir las células epiteliales, lo que puede contribuir a la invasión a nivel sistémico (Ryan y Ray, 2017, p.832).

Los receptores de superficie de glucomanano en la levadura pueden unirse a la fibronectina que cubre las células epiteliales o a los elementos de la matriz extracelular (ECM) cuando se pierde la superficie epitelial o cuando *Cándida* ha invadido más allá de esta. La invasión se asocia con formación de hifas y producción de proteinasas, las cuales pueden digerir elementos hísticos, la Figura 14 representa lo mencionado anteriormente (Ryan y Ray, 2017, p.832).

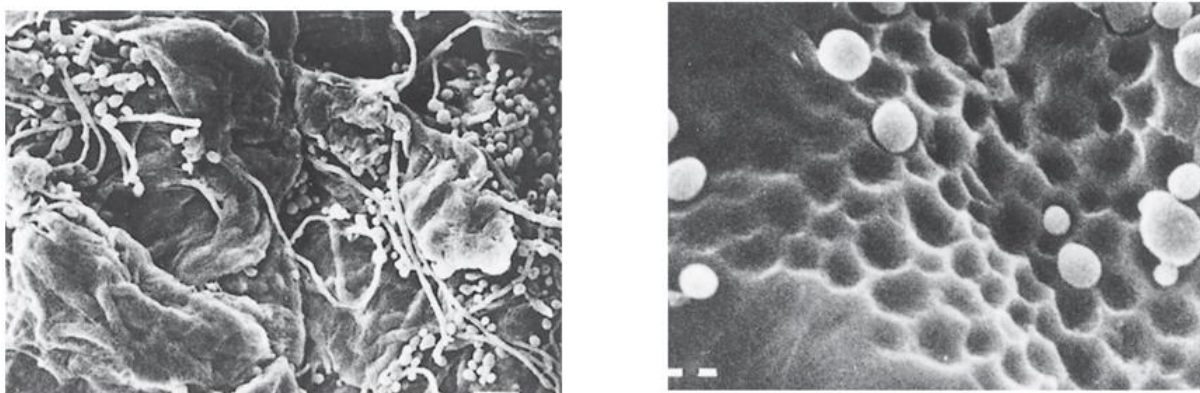
**Figura 14. Patogenia de las Infecciones por *Cándida albicans***



Nota: Ryan y Ray (2017).

Por otra parte, *Cándida* al formar micelios se diseminan sobre la superficie e invaden la cutícula celular, también es capaz de formar proteasas lo que provoca depresiones en forma de cavidades en la superficie celular. De esta forma se aumenta la capacidad de invasión celular. La Figura 15 muestra los procesos mencionados anteriormente.

**Figura 15. Invasión por *Cándida albicans***



Nota: Ryan y Ray (2017).

*Cándida sp* es una clásica enfermedad que se produce por hongos patógenos oportunistas que requiere de factores predisponentes, la mayoría se pueden deber a factores endógenos, atribuidos a dos procesos importantes: el desequilibrio de la flora microbiana que favorece el incremento de levaduras de dicho hongo y como segunda razón se presenta debido a enfermedades o procesos que influyen en la respuesta inmune, sobre todo a nivel celular. Sin embargo, también se puede ver favorecida por factores exógenos que se inician por el ingreso al organismo de grandes cantidades de levaduras en los que se inoculan los microorganismos de manera directa al torrente circulatorio (Bonifaz, 2015, p.772)

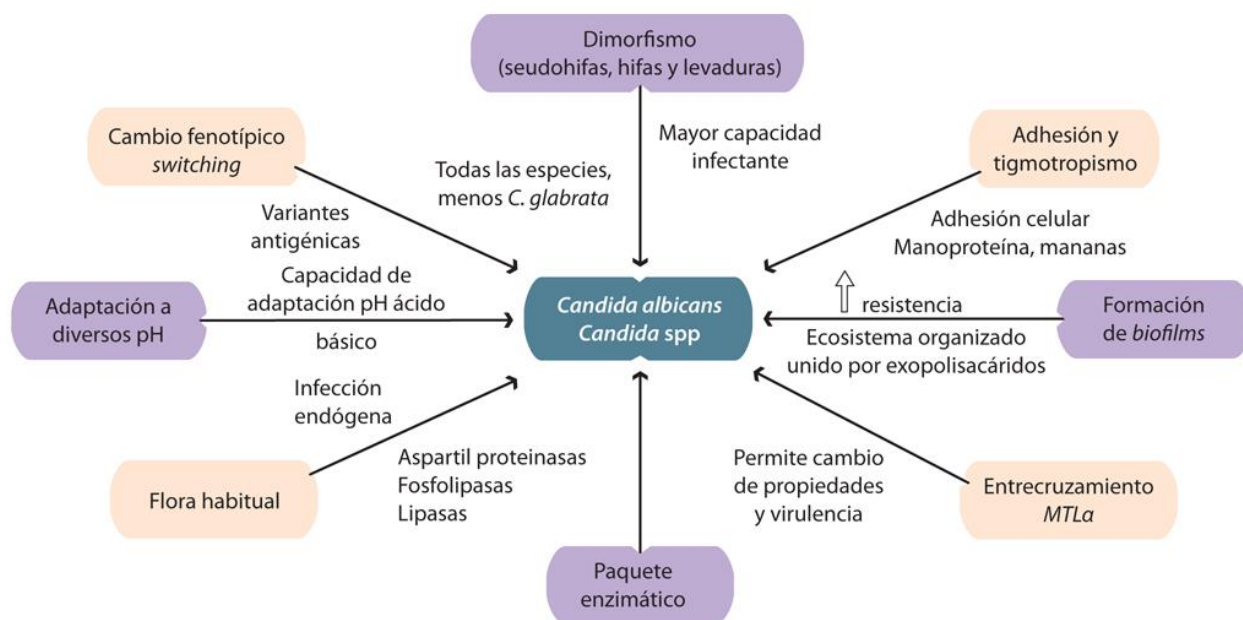
En el desarrollo del padecimiento influyen una serie de factores que actúan de manera coordinada; los más importantes son los siguientes:

- a. **Adaptación al pH:** esta propiedad está regida por dos genes (*PHR1* y *PHR2*); ambos se activan o inactivan en diferentes condiciones; el primero se activa en pH neutro o ligeramente básico (cuando está en sangre o piel alcalinizada) y se inactiva en medio ácido, accionándose a su vez el segundo.
- b. **Adhesinas:** son una serie de sustancias que influyen en la adaptación o adhesión de la levadura; su presencia está bien comprobada en *C. albicans* y *C. glabrata*. Las más importantes son las manoproteínas, las mananas.
- c. **Enzimas:** las enzimas de tipo queratinasas, peptidasas, hemolisinas, proteasas y hialuronidasas presentan factor de virulencia para las especies de *Cándida sp*.
- d. **Transición morfológica:** es la capacidad que tienen estas levaduras de cambiar morfológicamente de blastoconidio a pseudohifa e hifa. Este cambio es estimulado por las condiciones ambientales y se considera uno de los más significativos factores de patogenicidad o virulencia.
- e. **Switching fenotípico:** entendido como la capacidad que tienen estas levaduras de hacer grandes cambios fenotípicos, como son diferencias en la macromorfología colonial (colonias lisas, rugosas), y cambios en la antigenicidad, como aumento o disminución en la producción de enzimas y toxinas.
- f. **Formación de biopelículas o biofilms:** una biopelícula es una comunidad de microorganismos adheridos a una superficie que permanecen unidos con fuerza por sustancias poliméricas secretadas por ellos mismos. Esta conformación le da alta capacidad defensiva, persistencia y mayor resistencia al ataque de los antibióticos y antimicóticos. *C.*

*albicans* y *C. parapsilosis* son las dos especies con mayor capacidad de formar estas películas.

- g. **Adhesinas:** son proteínas y polisacáridos que permiten la adherencia a diversos tipos de superficies, incluso las hidrofóbicas y favorecen el fenómeno de tigmotropismo (crecimiento sobre superficies sólidas).
- h. **Apareamiento (entrecruzamiento):** en particular *C. albicans*, posee *locus* de apareamiento; esto permite el cambio físico de las cepas y de sus propiedades (Bonifaz, 2015, p.773).

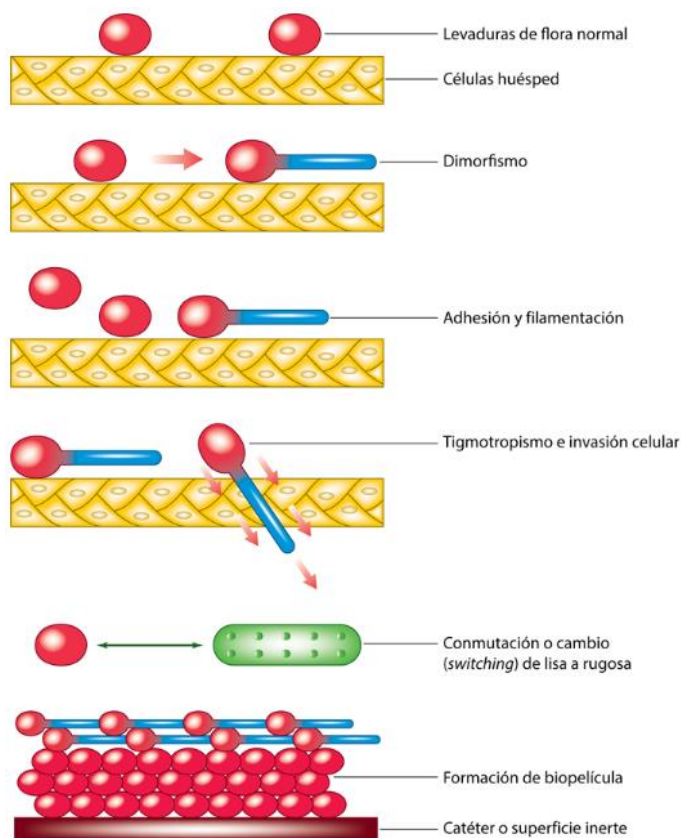
**Figura 16. Factores de Virulencia de *Cándida albicans***



Nota: Bonifaz (2015)

La candidosis superficial (cutánea o de mucosas) surge por un incremento en el número local de células de *Cándida sp* y daño de la piel o del epitelio, que permite la invasión local por las levaduras y por la seudohifas. La candidosis sistémica se presenta cuando *Cándida* entra al torrente sanguíneo y las defensas del hospedador innatas fagocíticas son inadecuadas para contener el crecimiento y diseminación de las levaduras. Estas pueden entrar al torrente sanguíneo al atravesar la mucosa intestinal (Carroll et al, 2016, p. 29).

**Figura 17. Formas de Invasión de *Cándida albicans***



Nota: Bonifaz, (2015).

## Epidemiología

La medida preventiva de mayor importancia es evitar la perturbación del equilibrio normal de la microbiota de defensas intactas del hospedador. La candidosis no es transmisible, porque prácticamente todas las personas poseen tales microorganismos dentro de su flora (Carroll et al, 2016, p.30).

*Cándida albicans* se presenta en niños o adultos y una vez que se adquiere el hongo se repite en forma espontánea, suele ser más frecuente en varones. Suele ser más común en zonas urbanas con respecto a las rurales. El modo de transmisión se da por medio de un individuo a otro, por fómites o contacto directo (Wolff, Allen, Saavedra, 2014, p.24).

Las diversas especies de *Cándida* no son frecuentes en piel sana, aunque de vez en cuando se les ha hallado en región perianal, interdigital y umbilical. Cuando la piel está enferma, sobre todo por algunas dermatosis (dermatitis por contacto o del área del pañal), la flora de *Cándida* se incrementa.

### **Vía de entrada**

La candidosis se puede adquirir de forma endógena por algún factor de predisposición del paciente, sin embargo, se puede adquirir de forma exógena por medio de introducción de granos inóculos de levaduras a través de catéteres y de jeringas no estériles, por medio de transmisión sexual (Bonifaz, 2015, p.774).

### **Edad y sexo**

La candidosis no discrimina y se presenta en personas de todas las edades, es muy común en lactantes, esto por medio de infecciones de las mucosas durante el parto. El padecimiento afecta a ambos sexos por igual; solo los casos genitales son más frecuentes en la mujer por las condiciones anatómicas propias de la vagina (Bonifaz, 2015, p.774).

### **Periodo de incubación**

La candidosis al ser una enfermedad endógena y causada por hongos oportunistas, resulta casi imposible determinar este periodo, exceptuando la balanitis que su periodo es de entre 36 y 72 horas después de la relación sexual (Bonifaz, 2015, p.774).

### **Factores de predisposición**

Aunque este hongo se puede adquirir de muchas formas y por medios endógenos y exógenos, suelen exaltarse ciertos factores de gran importancia como los que se mencionan a continuación:

1. Factores fisiológicos: cambios de pH, de manera notable en vagina y boca, embarazo y prematurez.
2. Enfermedades o procesos debilitantes: diabetes, tuberculosis, absceso hepático amebiano y desnutrición.
3. Inmunodeficiencias primarias o adquiridas: leucemias, linfomas, enfermedad de Hodgkin, infección por HIV-SIDA y, para el caso específico de la candidosis mucocutánea generalizada, agammaglobulinemias; síndrome de Di George, timomas, hipoparatiroidismo e hipoadrenocortisolismo.

4. Factores iatrogénicos: tratamientos prolongados con antibióticos, corticosteroides, citotóxicos, inhibidores biológicos del factor de necrosis tumoral; tratamientos anticonceptivos orales y dispositivos intrauterinos. Cateterismo y procesos quirúrgicos invasivos.
5. Misceláneo: dermatosis inflamatorias previas (dermatitis por contacto y del área del pañal), traumatismos ungueales, mal estado de la dentadura, prótesis dentales mal adaptadas y humedad (Bonifaz, 2015, p.775).

**Tabla 3. Factores de Predisposición**

<b>Tipo de candidosis</b>	<b>Factor predisponente o de riesgo</b>
Orofaringea	Edad avanzada, uso de prótesis dentales, diabetes mellitus, radioterapia (cáncer de cabeza y cuello), corticoesteroides inhalados y sistémicos, quimioterapia citotóxica, infección por VIH, enfermedades hematológicas, trasplantes de órganos sólidos o de células madre.
Esofágica	Corticoesteroides sistémicos, SIDA, cáncer, trasplante de órganos sólidos o de célula madre.
Gastrointestinal	Cáncer, cirugía
Vulvovaginal	Anticonceptivos orales, embarazo, diabetes mellitus, corticoesteroides sistémicos, uso de antibióticos.
Cutánea y onicomicosis	Humedad local y oclusión, diabeteles, inmersión de las manos en agua, enfermedad vascular periférica.
Cutánea congénita	Cuerpo extraño intrauterino, prematurez.

Mucocutánea crónica	Defectos en linfocitos T y procesos endocrinológicos.
Tracto urinario	Catéter urinario infestado, obstrucción urinaria, procedimientos del tracto urinario, diabetes mellitus.
Neumonía	Aspiración, inmunosupresión, trasplantes.
Endocarditis	Cirugía mayor, endocarditis bacteriana o enfermedad cardiaca vascular, abuso de drogas intravenosas, catéter venoso central.
Pericarditis	Cirugía torácica, inmunosupresión.
Sistema nerviosos central	Cirugía del SNC, derivación ventrículo-peritoneal, cirugía ocular.
Ocular	Traumatismos, esteroides tópicos, cirugías.
Abdominal	Perforación recurrente, cirugía abdominal repetitiva, pancreatitis, diálisis peritoneal ambulatoria continua.
Hematógena	Trasplante de órganos sólidos, colonización, uso prolongado de antibióticos, cirugía abdominal, cuidados intensivos, nutrición parenteral total, inmunosupresión, trasplante de hígado o de células madre.

Nota: Bonifaz, (2015).

## Clasificación

**Tabla 4. Variedades Clínicas de *Cándida albicans***

<b>Candidosis</b>	<b>Tipo clínico</b>
Mucocutánea	Oral Genital (vaginal y balanitis) Mucocutánea crónica Gastrointestinal Bronquial/pulmonar
Cutánea	Intertrigos Onicomycosis (perionixis, onicólisis, onixis) Del área del pañal Postulosis Granulomatosa Cutánea congénita
Sistémica	Tracto urinario Meningitis Endocarditis Candidemia
Miscelánea	Otitis Úlceras corneales Endoftalmitis
Alérgica	Candidides Eccema Rinitis, alveolitis y asma Gastritis alérgica

Nota: Bonifaz, (2015).

## Candidosis mucocutánea

### Candidosis oral

Llamada algodoncillo, trush o muguet. Se divide en dos tipos; la candidosis oral aguda y crónica, la primera suele presentarse en niños recién nacidos por la falta de regulación de pH y se contrae por un fuerte inóculo adquirido a través del canal del parto, sobre todo cuando la madre a presentado candidosis vaginal en el último trimestre del embarazo. En los adultos suele presentarse en forma aguda o crónica, por lo general en diabéticos o después de tratamientos antibacterianos prolongados (Bonifaz, 2015, p.776).

#### *Candidosis oral aguda*

Se divide en dos tipos:

- Seudomembranosa: es la variedad clínica más común, suele presentarse en la lengua, pero puede afectar también encías, paladar o invadir toda la boca. La morfología típica es de placasseudomembranosas, cremosasm y blanquecinas, con fondo eritematoso, que simulan restos de leche. La sintomatología más común es ardor y dolor, que suele impedir la alimentación en los niños (Bonifaz, 2015, p.776).

#### **Figura 18. Candidosis Seudomembranosa**



Nota: Bonifaz, (2015).

- Atrófica aguda: suele presentarse en lengua y en menor grado en paladar, es propia de pacientes bajo antibioticoterapia prolongada. Se presenta en zonas eritematosas, erosionadas, en ciertas ocasiones con un velo blanquecino. Presenta un intenso ardor (Bonifaz, 2015, p.776).

#### *Candidosis oral crónica*

- Hiperplásica o lengua vellosa: Se manifiesta sobre todo en los bordes laterales de la lengua y en la mucosa yugal, pueden presentarse fisuras y úlceras muy dolorosas (Bonifaz, 2015, p.776).

**Figura 19. Candidosis Oral Crónica Hiperplásica**



Nota: Bonifaz, (2015).

- Queilitis angular: tiende a afectar los labios a nivel de las comisuras formando placas eritemato-escamosas y erosionadas (Bonifaz, 2015, p.777).

**Figura 20. Queilitis Angular**



Nota: Bonifaz, (2015).

- Crónica atrófica o estomatitis subplaca: se presenta en una sola placa bien adherida, casi siempre eritematosa. (Bonifaz, 2015, p.777).

**Tabla 5. Clasificación de la Candidosis**

<b>Aguda</b>	<b>Crónica</b>
Seudomembranosa	Hiperplásica “lengua vellosa”
Atrófica	Queilitis angular Atrófica o eritomatitis subplaca Mucocutánea crónica

Nota: Bonifaz, (2015).

### **Candidosis genital**

- Vaginitis candidósica: esta infección afecta el aparato genital de la mujer, ocurre por lo general en la edad reproductiva. Suele aparecer con abundante exudado blanquecino llamado leucorrea, espeso, grumoso, no fétido. Como consecuencia la mucosa suele encontrarse eritematosa, inflamada, con intenso prurito, ardor vulvar y dispareunia (Bonifaz, 2015, p.777).

**Figura 21. Vaginitis Candidósica**



Nota: Bonifaz, (2015).

- Balanitis o balanopostitis candidósica: suele presentarse como consecuencia de relaciones sexuales con una pareja que cursa con vaginitis por candida o bien por una flora incrementada. Constituida por placas de eritema, micropústulas, erosiones y fisuras, se puede presentar leucoplasas a través de todo el glande y surco balanoprepucial. La sintomatología característica es prurito moderado, ardor intenso (Bonifaz, 2015, p.777).

**Figura 22. Balanoprostitis Candisósica**



Nota: Bonifaz, (2015).

### **Candidosis del tracto gastrointestinal**

- Esofagitis: suele provenir de la candidosis oral, suelen observarse placas blanquecinas similares a las orales. La sintomatología más frecuente es disfagia, náusea y vómito, los pacientes suelen referir ardor y dolor que dificulta la alimentación.
- Gastritis: la morfología característica es de placas blanquecinas sobre fondo eritematoso y pequeñas úlceras.

- Peritonitis: se asocia con la abundante colonización de *Candida* en intestino o bien por traumatismos quirúrgicos.
- Candidosis entérica: aunque es difícil de detectar, el signo más frecuente es la diarrea. Los pacientes que tienen este padecimiento suelen presentar candidosis perianal (Bonifaz, 2015, p.778).

### *Candidosis respiratoria*

- Candidosis broncopulmonar: suele ser frecuente en pacientes inmunodeprimidos caracterizándose por la presencia de tos constante con expectoración mucoide o gelatinosa (Bonifaz, 2015, p.778).

**Figura 23. Candidosis Broncopulmonar**



Nota: Bonifaz, (2015).

- Candidosis pulmonar: esta enfermedad es menos frecuente que la de tipo bronquial, sin embargo, tiene un curso más agudo y grave. El cuadro clínico está constituido por abundante tos con expectoración mucoide y sanguinolenta, disnea, dolor torácico y fiebre

nocturna. Este padecimiento llega a afectar dos o más lóbulos pulmonares pudiendo cursar con derrames pleurales (Bonifaz, 2015, p.778).

## **Candidosis cutánea**

### *Candidosis intertriginosa*

Por lo general *Cándida* no forma parte de la flora habitual de la piel, es por esta razón que la candidosis cutánea es más rara que la de mucosas, sin embargo, influyen factores como maceración y humedad de la piel para que se presente este hongo.

La morfología característica es de placas eritemato-escamosas con fisuras o erosiones, vesículas, pústulas y costras hemáticas. La sintomatología más clásica es prurito y en ciertas ocasiones ardor.

La topografía cutánea preferente es en los pliegues (pequeños y grandes), entre los que sobresalen los siguientes:

- Interdigitales de las manos: se manifiesta sobre todo en personas que por ocupación mantienen las manos húmedas.

**Figura 24. Candidosis Interdigital**



Nota: Bonifaz, (2015).

- Interdigitales de los pies: presente en las personas con costumbre de usar zapatos cerrados o de goma y es difícil de distinguir de la tiña de los pies y del eritrasma.
- Intermamarios y submamarios: frecuente en pacientes diabéticos o con la costumbre de usar ropa interior sintética.

**Figura 25. Intertrigo Mamario**



Nota: Bonifaz, (2015).

- Axilar: común en personas obesas, o posterior a dermatitis por contacto por desodorantes.
- Inguinal: se presenta en personas con exceso de peso, o bien cuando se emplea terapia con corticosteroides; es frecuente encontrarla asociada a tiña inguinocrural corticoestropada.

**Figura 26. Candidosis Inguinal**



Nota: Bonifaz, (2015).

- Región umbilical: Por obesidad.
- Interglútea o perianal: se genera por extensión de una candidosis inguinal, o más frecuentemente a partir de candidosis intestinal, o bien, por relaciones sexuales anogenitales, común en hombres que tienen sexo con hombres (Bonifaz, 2015, p.779).

### **Onicomycosis por cándida**

Suele presentarse en las uñas de las manos en un mayor porcentaje, siendo frecuente el origen por diabetes, traumatismos, uñas artificiales adheridas y exceso de humedad en las manos. Se manifiesta de las siguientes maneras:

- Perionixis o paroniquia: se inicia en el pliegue proximal o lateral, se presenta con inflamación alrededor de la uña, los pacientes refieren escaso prurito y dolor a la palpación. Conforme el cuadro se hace crónico la uña se vuelve opaca, despulida, con algunas estrías y puede ser posible que se desprenda (Bonifaz, 2015, p.780).

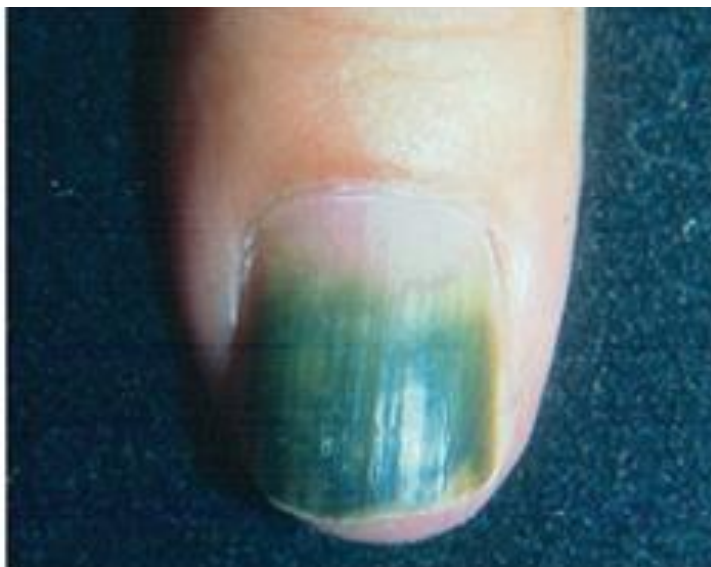
**Figura 27. Paroniquia**



Nota: Bonifaz, (2015).

- Onicólisis: es común en las uñas de las manos, se inicia por el borde libre, provocando desprendimiento de la uña. La uña se hace opaca y estriada (Bonifaz, 2015, p.780).

**Figura 28. Onicólisis**



Nota: Bonifaz, (2015).

- Onixis: es una parasitación en la uña, se presenta en la mayoría de estas y produce un engrosamiento del plato ungueal (Bonifaz, 2015, p.780).

**Figura 29. Onixis**



Nota: Bonifaz, (2015).

### *Candidosis del área del pañal*

Esta suele originarse debido a que la orina mantiene húmeda la zona, suele generar irritación. La morfología clásica es de placas eritemato-escamosas, acompañadas de vesículas, pústulas y en ocasiones costras hemáticas. La sintomatología suele ser prurito y ardor intensos (Bonifaz, 2015, p.780).

**Figura 30. Candidosis del Área del Pañal**



Nota: Bonifaz, (2015).

### *Pustulosis candidósica*

Se presenta en pacientes adultos jóvenes adictos a las drogas, en especial las administradas por vía intravenosa. La topografía más habitual es en barba, piel cabelluda y axilas. Se presentan lesiones pustulosas o micronodulares, acompañadas de fiebre (Bonifaz, 2015, p.781).

**Figura 31. Pustulosis Candidósica Diseminada**



Nota: Bonifaz, (2015).

### *Candidosis cutánea congénita*

Se considera que se origina por una combinación de candidosis vaginal y la rotura prolongada de membranas. Su manifestación clínica es de una erupción generalizada, que ocurre dentro de las primeras 72 horas de vida. Se caracteriza por máculas eritematosas que pueden dar paso a pápulas, vesículas y pústulas (Bonifaz, 2015, p.781).

**Figura 32. Candidosica Cutánea Congénita**



Nota: Bonifaz, (2015).

### **Candidosis sistémica o profunda**

- Candidosis del tracto urinario: suele ser más frecuente en mujeres, se asocia sobre todo a pacientes con corticoterapia, diabéticos y con cateterismo.
- Endocarditis candidósica: es común en drogadictos heroínómanos que se administran la droga por vía intravenosa con jeringas no estériles. La sintomatología suele ser similar al de la endocarditis bacteriana, se ha observado fiebre moderada, soplos y esplenomegalia.
- Meningitis candidósica: es rara, se presenta más en pacientes leucémicos, diabéticos o tratados con corticoesteroides sistémicos. Los pacientes refieren vértigo, estupor y pueden llegar con facilidad al estado de coma.
- Candidemia: la sintomatología suele ser fiebre, escalofríos, en algunas ocasiones erupción cutánea pruriginosa (Bonifaz, 2015, p.780).

## **Manifestaciones clínicas**

Las manifestaciones se presentan de acuerdo con el tipo de Candidosis que se presente; a continuación, se mencionan.

### **Candidosis cutánea y de mucosas**

Puede presentar lesiones pseudomembranosas blanquecinas, compuestas de células epiteliales, levaduras y pseudohifas. Presenta irritación, prurito y secreción vaginal. Las zonas infectadas se tornan rojas y húmedas, pudiendo surgir vesículas. La invasión de la uña y alrededor de la placa ungueal muestra inflamación dolorosa y eritematosa del pliegue ungueal, pudiendo llegar a destruir la uña (Carroll et al, 2016, p.34)

### **Candidosis sistémica**

Puede ser causada por catéteres o sondas permanentes, cirugías, abuso de drogas intravenosas, broncoaspiración o daño de la piel o el tubo digestivo. Tiende a surgir más a menudo en pacientes en los que se ha administrado por largos plazos corticoesteroides y otros inmunodepresores (Carroll et al, 2016, p.34).

### **Candidosis mucocutánea crónica**

Se caracteriza por la formación de lesiones granulomatosas por cándida en cualquiera o todas las superficies cutáneas, mucosas o ambas. Las formas más comunes se presentan al inicio de la niñez y están relacionadas con autoinmunidad e hipoparatiroidismo.

Los pacientes pueden desarrollar lesiones crónicas, costosas muy queratíticas que deforman la piel, mucosa de la boca y piel cabelluda (Carroll et al, 2016, p.34).

Por otra parte, los autores Wolff, Allen, Saavedra; (2014, p.26) mencionan las manifestaciones que se presentan en el aparato ungueal e intertrigo, así como dermatitis por el pañal.

### **Aparato ungueal (uñas) . Paroniquia crónica con exacerbación candidósica**

Puede generarse infección crónica dolorosa con hipersensibilidad, eritema con pus. La uña se torna distrófica con zonas de opacificación; pigmentación blanca, amarilla, verde o negra; con surcos transversos.

### **Intertrigo candidósico**

Se presenta prurito, hipersensibilidad y dolor. Las pústulas iniciales sobre una base eritematosa se erosionan y confluyen. Después, aparecen placas muy bien delimitadas, policíclicas, eritematosas y erosionadas con pequeñas lesiones pustulosas en la periferia (*pustulosis satélite*).

### **Dermatitis por el pañal**

Presenta irritabilidad, molestia con la micción, la defecación o el cambio de pañales. Eritema, edema con lesiones papulosas y pustulosas; erosiones, descamación en forma de collar en los bordes de la lesión.

## **Diagnóstico**

El autor Bonifaz, (2015, p.782) menciona los métodos y pruebas para poder diagnosticar el hongo de *Cándida albicans*, los cuales se mencionan a continuación:

### **Toma de muestra**

La candidosis se puede presentar en todas las partes del cuerpo, los productos que se recolectan son exudados, escamas, sangre, esputo, orina, LCR. En el caso particular de muestras de sangre, es de suma importancia que se tomen con tubos con microperlas para lisis.

### **Examen directo**

El material obtenido se coloca entre portaobjetos y cubreobjetos con un aclarante, de preferencia hidróxido de potasio (KOH) de 10 a 20%. Al microscopio se observan grandes cúmulos de blastoconidios y pseudohifas cortas o largas e hifas, que determinan el estado patógeno y virulento de la levadura y confirman el diagnóstico.

## Cultivos

Las características de las colonias en la mayor parte de medios son similares, crecen en dos a tres días a 28 o 37 °C, dando colonias blanquecinas, lisas (en ocasiones rugosas), húmedas, limitadas, opacas y en algún momento se observan seudomicelio y micelio dentro del agar.

**Figura 34. Cultivo de Cándida**



Nota: Bonifaz, (2015).

**Figura 33. Cultivo de *Cándida albicans***

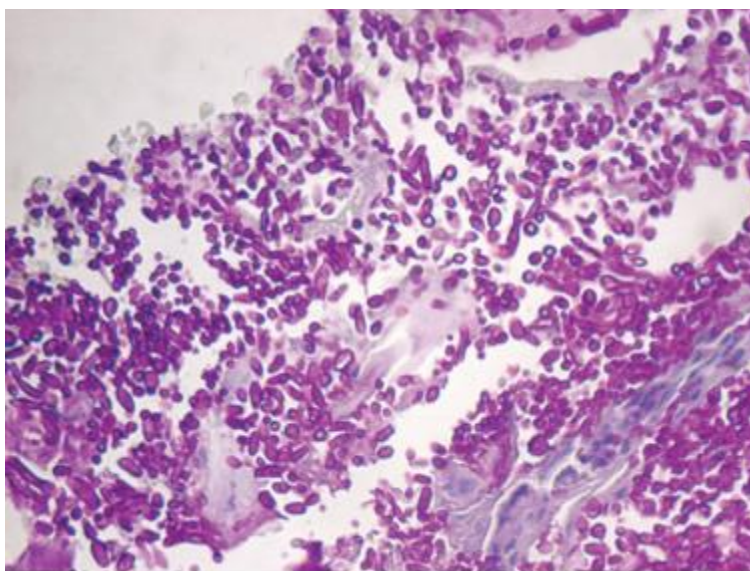


Nota: Bonifaz, (2015).

## **Biopsia**

Este método de detección es solo útil en los casos cutáneos profundos. Por lo general se reportan procesos granulomatosos acompañados de estructuras fúngicas como lo son blastoconidios y pseudohifas.

**Figura 35. Biopsia de Candidosis**



Nota: Bonifaz, (2015).

## **Radiografías y tomografías**

Son valiosas solo en los casos de candidosis a nivel pulmonar y también meníngea.

## **Pruebas inmunológicas**

### **Serología**

Recomendable sobre todo para los casos profundos y sistémicos, o bien cuando se reportan títulos altos y repetidos. Las técnicas más usadas son precipitación, fijación de complemento, inmunofluorescencia directa o indirecta.

PCR y RAPD son en la actualidad las pruebas más útiles para la identificación de las diversas especies de *Cándida sp.* Ambas son pruebas de alta sensibilidad y especificidad (> 90%), y se recomiendan sobre todo en infecciones severas, como candidemias, endocarditis y afecciones pulmonares.

### **Concentración mínima inhibitoria**

Tal y como lo describe Clinical Laboratory Standars Institute CLSI, un microorganismo es sensible cuando se ha generado un halo de inhibición de un diámetro de entre 30mm a 35mm, de esta manera una cepa es resistente cuando se generan halos de inhibición menores a 15mm.

De esta manera mediante la aplicación de este ensayo es posible determinar cuáles sustancias son efectivas permitiendo determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI). Con esto se puede establecer que la CMI es la concentración mínima de una sustancia que logra inhibir el crecimiento y desarrollo de un microorganismo. La interpretación que se le debe dar al halo de inhibición es a tres niveles distintos: sensible (S), intermedio (I) y resistente (R) (2017, p.53).

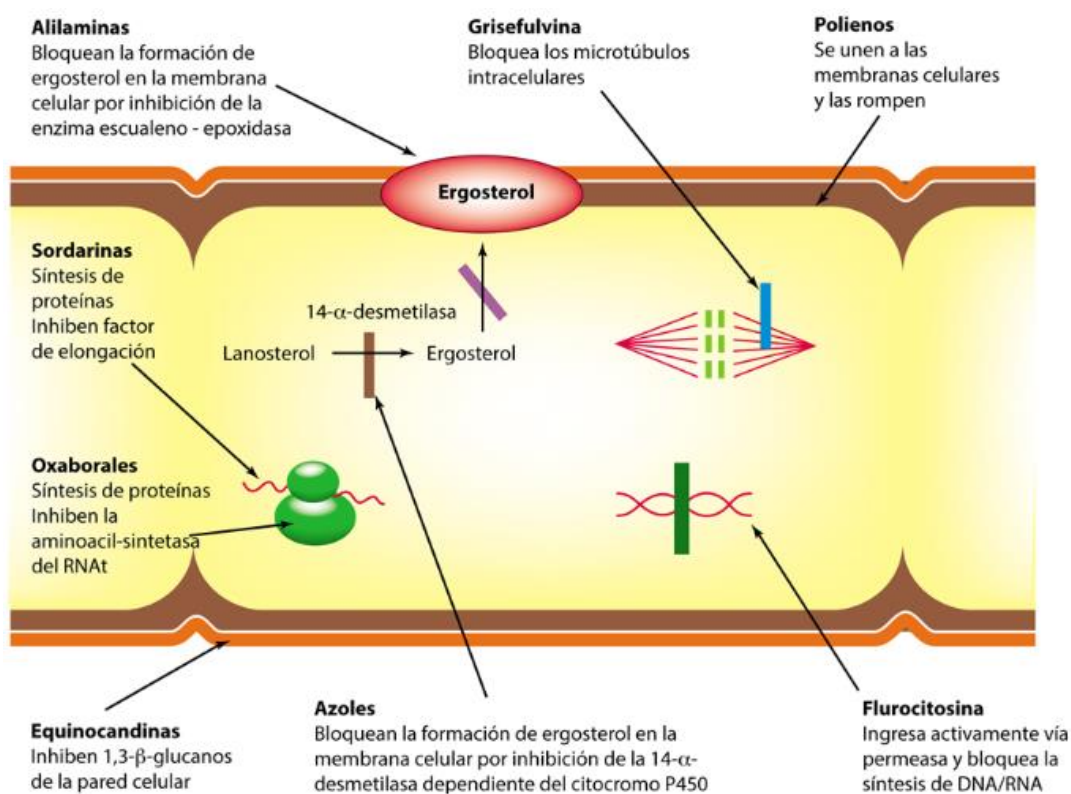
### **Tratamiento**

#### **Antimicóticos**

Son una serie de medicamentos que tienen diversas acciones frente a los hongos productores de micosis superficiales, subcutáneas y profundas. Se les puede dividir según el mecanismo de acción, composición química, espectro de acción y tipo de micosis contra el que actúan. (Bonifaz, 2015, p.820)

Es importante definir los conceptos necesarios para entender la actividad que poseen los medicamentos anti fúngicos, de esta manera la Real Academia Española define fungicida como un agente que destruye los hongos y fungistático como una sustancia que impide o inhibe la actividad del hongo (2017).

**Figura 36. Mecanismo de Acción de los Antimicóticos**



Nota: Bonnifaz, (2015).

**Tabla 6. Tipos de Antimicóticos y Grupos de Químicos a los que Pertenecen**

Tipos de antimicóticos	Grupos y ejemplos
1. Inhibidores de la síntesis del ergosterol (membrana fúngica)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Imidazólicos: bifonazol, ketoconazol, miconazol, isoconazol, luliconazol, sertaconazol.</li> <li>• Triazólicos: fluconazol, itraconazol, voriconazol, posaconazol, efinaconazol.</li> </ul>

	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Alilaminas: naftifina, terbinafina.</li> <li>• Bencilaminas: butenafina.</li> </ul>
2. Desensibilizadores de membrana fúngica (derivados poliénicos)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Anfotericina B desoxicolato</li> <li>• Anfotericina B lipídica</li> <li>• Anfotericina B liposomal</li> <li>• Anfotericina B de dispersión coloidal</li> <li>• Nistatina</li> <li>• Pimaricina</li> </ul>
3. Inhibidores de la síntesis de ácidos nucleicos	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 5- fluorocitosina</li> </ul>
4. Inhibidores de la mitosis fúngica	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Griseofulvina</li> </ul>
5. Inhibidores de la síntesis de proteínas	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Sordarinas</li> <li>• Oxaboroles</li> </ul>
6. Inhibidores de la síntesis de pared celular fúngica	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Equinocandinas y neumocandinas: micafungina, anidulafungina y caspofungina</li> <li>• Nikkomicinas</li> </ul>
7. Grupo misceláneo	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ámorolfina</li> <li>• Ciclopiroxolamina</li> <li>• Derivados tiocarbamatos: tolnaftato y tolclolato</li> </ul>

Nota: Bonifaz, (2015).

Como lo menciona Arenas, (2015, p. 6) los tratamientos utilizados para para tratar las candidosis serían yodoclorohidroxiquinoleína al 3%, clotrimazol, isoconazol, tioconazol, ketoconazol, sulconazol, bifonazol, miconazol, terbinafina tópica, amorolfina y ciclopiroxolamina.

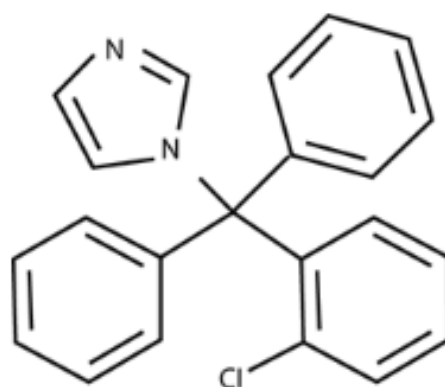
Los autores Ryan y Ray, (2017, p.835) mencionan que *Cándida albicans* suele ser susceptible a la anfotericina B, nistatina y compuestos azólicos. Las medidas para disminuir la

humedad y el traumatismo crónico son auxiliares importantes en el tratamiento de las infecciones cutáneas por *Cándida*. Por otra parte, las infecciones profundas por *Cándida albicans* pueden ceder en forma espontánea al eliminar o controlar los factores predisponentes.

### **Clotrimazol**

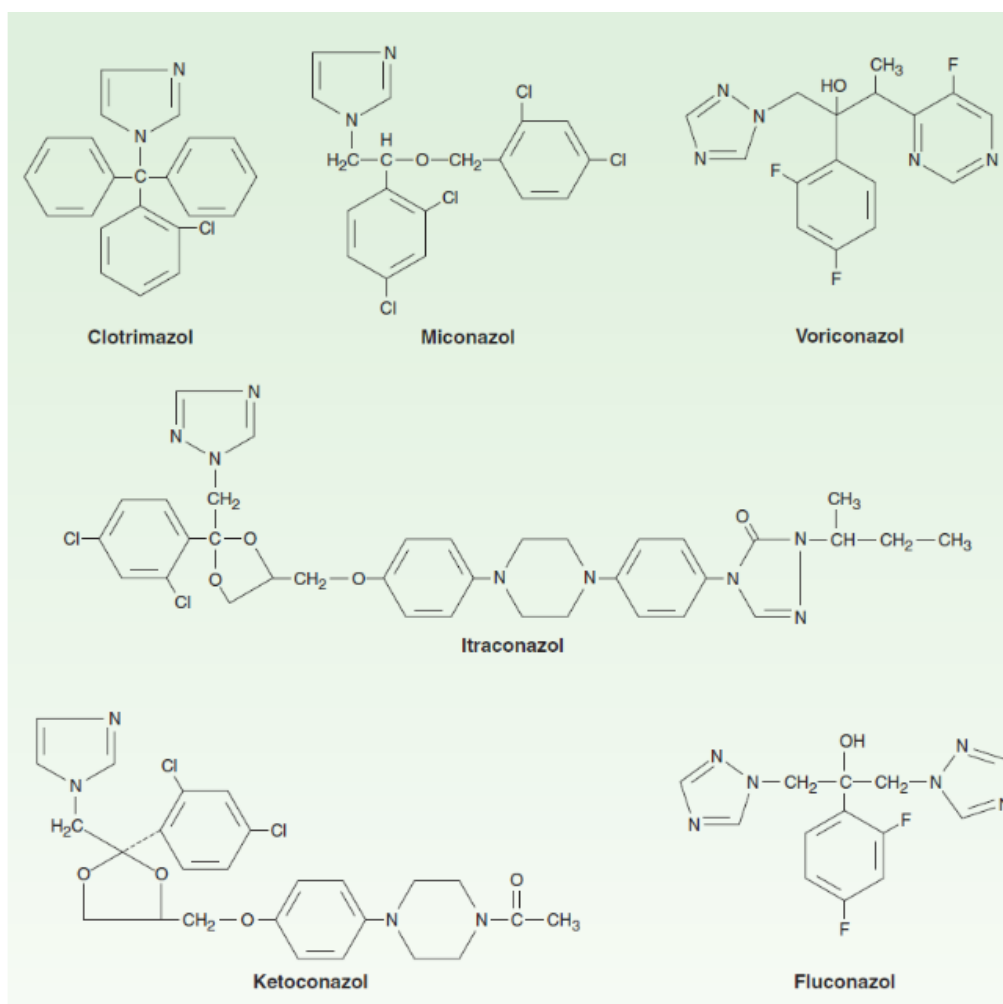
- Molécula: Imidazol.
- Mecanismo de acción: fungistático a nivel de la membrana celular; la actividad antimicótica de los azólicos es producto de la disminución de la síntesis de ergosterol por inhibición de las enzimas del citocromo P450 del hongo. Los imidazoles muestran un menor grado de selectividad que los compuestos triazólicos, lo que contribuye a su mayor incidencia de interacciones farmacológicas y efectos secundarios.
- Espectro e indicaciones: dermatofitos, *Candida* spp., *Corynebacterium minutissimum* y poca acción contra *Trichomonas vaginalis*. Está indicado en tiña de los pies, ingle y cuerpo; en candidosis cutánea, vulvovaginal y eritrasma.
- Presentación: crema, talco, solución al 2%; óvulos vaginales al 2 y 10% y comprimidos vaginales de 500 mg.
- Dosificación: para la tiña de pies, cuerpo e ingle: dos a tres aplicaciones diarias durante 15 a 30 días. Para la candidosis vaginal: óvulos al 2% durante tres días; óvulos al 10% o comprimidos vaginales (500 mg) una sola aplicación. Para el eritrasma se prefiere la solución, dos o tres aplicaciones al día durante 20 días.
- Contraindicación: hipersensibilidad al fármaco.
- Efectos colaterales: pueden presentarse algunas dermatitis por contacto y discreta irritación en mucosas.
- Interacciones medicamentosas: no se han reportado (Bonifaz, 2015,p.1000).

**Figura 37. Estructura de Clotrimazol**



Nota: Bonifaz, (2015).

**Figura 38. Fórmulas Estructurales de Compuestos Azólicos**

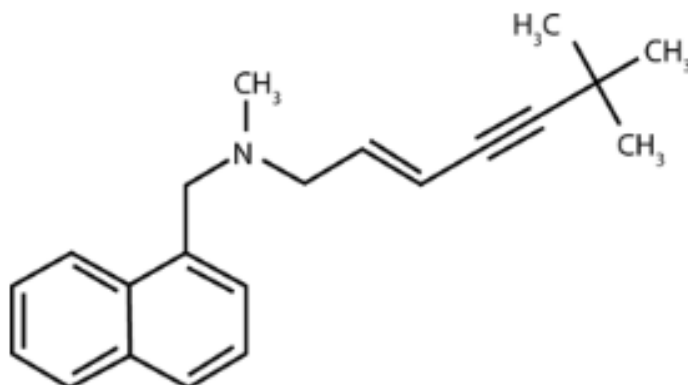


Nota: Katzung y Trevor, (2016).

## Terbinafina

- Molécula: alilamina de origen sintético.
- Mecanismo de acción: fungicida y fungistático. A nivel de la síntesis del ergosterol, actúa inhibiendo la enzima escualenoepoxidasa, lo que genera membranas fúngicas defectuosas.
- Espectro e indicaciones: tiene un excelente espectro frente a la mayoría de dermatofitos, y buen espectro *in vitro* contra cepas de *Candida* y *Malassezia* spp. Su principal indicación es en tiñas de la cabeza, pies, cuerpo e ingle; es uno de los fármacos más efectivos en la onicomycosis (dermatofítica).
- Presentación: Su presentación oral es en comprimidos de 250 mg. Tópica en crema, solución y emulsión gel al 1%.
- Dosificación: para tiña de los pies una a dos aplicaciones diarias de la crema durante 15 a 30 días; para tiña del cuerpo, ingle y candidosis superficial, una aplicación diaria por 15 días.
- Contraindicaciones: Hipersensibilidad al fármaco. No es recomendado su uso en pacientes con daño hepático, ni en pacientes embarazadas o en periodo de lactancia.
- Efectos colaterales: la presentación tópica puede generar algunas dermatitis por contacto. La administración sistémica produce pocos efectos colaterales (5 a 7%), la mayoría de ellos de tipo gástrico; los más importantes son náusea, dolor abdominal, vómito, pérdida del apetito, dispepsia, así como daño hepatobiliar, aunque de manera excepcional.
- Interacciones medicamentosas: fármacos que aumentan la biodisponibilidad y concentraciones de terbinafina: cimetidina. Fármacos que disminuyen la biodisponibilidad y concentraciones de terbinafina: rifampicina. Fármacos que ven alterado su metabolismo con terbinafina: tiene potencial mínimo para inhibir o potenciar la depuración y por consiguiente las concentraciones de fármacos como la tolbutamida, terfenadina, triazolam y anticonceptivos orales, causando algunas alteraciones menstruales. Incrementa el efecto o concentración plasmática de la cafeína, antidepresivos tricíclicos, betabloqueadores y aumenta el tiempo de protrombina cuando se da a la par con warfarina; disminuye el efecto y concentración de la ciclosporina A (Bonifaz, 2015, p.1001).

**Figura 39. Molécula de Terbinafina**



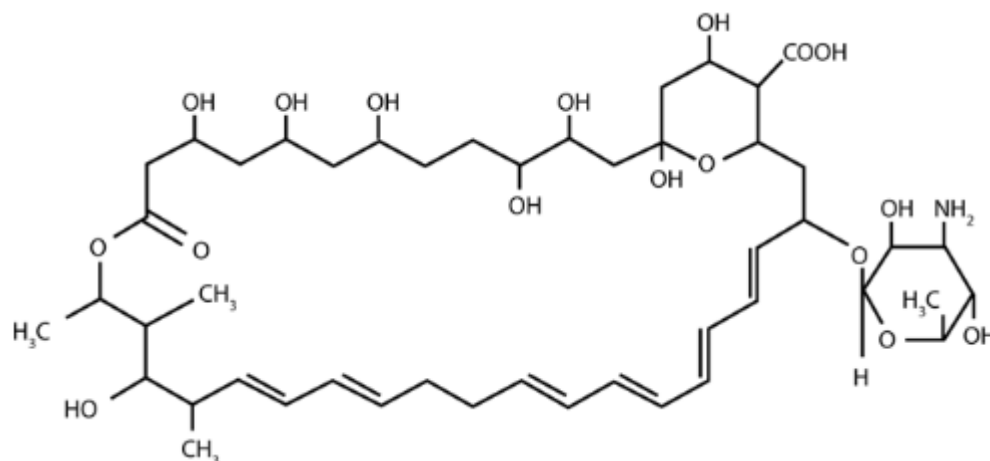
Nota: Bonifaz, (2015).

### Nistatina

- Molécula: macrólido poliénico del tipo tetraeno con una micosamina. Poco soluble en agua y de rápida descomposición en ella; es un antibiótico natural extraído de *Streptomyces noursei* y en ocasiones de *S. albulus*.
- Mecanismo de acción: fungistática y fungicida. Similar a la anfotericina B, es decir, actúa a nivel de la membrana celular adhiriéndose a los esteroides de la membrana fúngica. deja poros y espacios membranosos, causa lisis y muerte celular.
- Espectro e indicaciones: hongos levaduriformes: *Candida* spp., *Geotrichum candidum*, algunos hongos mohos como *Aspergillus* spp.
- Presentación: Tiene varias formas: crema, suspensión oral y óvulos a dosis de 100 000 U. grageas a dosis de 500 000 U.
- Dosificación: la nistatina no se absorbe por vía gástrica, y por vía parenteral es sumamente tóxica. Es un medicamento de acción tópica, e incluso las grageas solo sirven para candidosis gastrointestinal. Las presentaciones tópicas de 100 000 U se aplican una a dos veces al día.
- Efectos colaterales: tópicamente puede generar dermatitis por contacto. Cuando se administra por vía oral llega a causar náusea, vómito y diarrea, los cuales disminuyen al bajar la dosis.

- Interacciones medicamentosas: debido a que no se absorbe, prácticamente no tiene interacciones (Bonifaz, 2015, p.1003).

**Figura 40. Molécula de Nistatina**



Nota: Bonifaz, (2015).

### **CAPÍTULO III: MARCO METODOLÓGICO**

En el presente capítulo se dará a conocer el tipo de enfoque de la investigación, así como el método, fuentes de información, las variables que se utilizarán además de que el lector se entere de los instrumentos y los procedimientos de recolección del análisis de los datos.

#### **Enfoque**

La presente investigación tendrá un enfoque cuantitativo; el cual se define como:

El enfoque cuantitativo (que representa, como dijimos, un conjunto de procesos) es secuencial y probatorio. Cada etapa precede a la siguiente y no podemos “brincar” o eludir pasos. El orden es riguroso, aunque desde luego, podemos redefinir alguna fase. Parte de una idea que va acotándose y, una vez delimitada, se derivan objetivos y preguntas de investigación, se revisa la literatura y se construye un marco o una perspectiva teórica. De las preguntas se establecen hipótesis y determinan variables; se traza un plan. (Sampieri, Fernández y Baptista, 2014, p.4)

Ya que se realizará un experimento en el laboratorio donde se extraerá el aceite esencial de orégano para evaluar el efecto anti fúngico que presenta frente a las cepas de *Cándida albicans*.

#### **Método**

El método de la investigación en curso será experimental; el cual se define como:

Se refiere a un estudio en el que se manipulan intencionalmente una o más variables independientes (supuestas causas antecedentes), para analizar las consecuencias que la manipulación tiene sobre una o más variables dependientes (supuestos efectos consecuentes), dentro de una situación de control para el investigador. (Sampieri, Fernández y Baptista, p.129)

De esta manera la presente investigación tiene como fin poder demostrar mediante los resultados obtenidos en el laboratorio, de manera experimental el efecto que posee el aceite esencial de orégano frente a cepas de un hongo como lo es *Cándida albicans*.

### Fuentes de información

En el presente trabajo se realizará en el laboratorio de la Universidad Internacional de las Américas y se utilizarán los datos obtenidos en el laboratorio tanto químico como microbiológico, (Microlabs) para obtener el aceite esencial de orégano, la concentración mínima inhibitoria, así como el efecto que posee ese aceite esencial frente a cepas del hongo en estudio.

### Variables

**Tabla 7. Variables del Método Experimental**

Variable	Definición conceptual	Definición Operacional	Definición instrumental
Aceite esencial	Son sistemas naturales, complejos y multicomponentes compuestos principalmente de terpenos, además de algunos otros componentes no terpénicos (Edris, 2007, p.1).	Se obtendrá mediante el método de arrastre con vapor y la purificación por medio del rotavapor.	Equipo de destilación por arrastre con vapor y equipo de rotavapor.
Principio activo	Es la sustancia a la cual se debe el efecto farmacológico de un medicamento (Hernández, 2014, p. 32).	Identificar el o los principios activos mediante espectroscopia infrarroja y técnicas de laboratorio para identificación cualitativa de grupos funcionales	Espectrofotómetro infrarrojo, tubos de ensayo, reactivos necesarios para realizar las pruebas de identificación.

		presentes en el aceite esencial de orégano.	
Efecto antifúngico	Modificación del funcionamiento de un hongo, causado por agentes químicos externos produciendo inhibición en el crecimiento del hongo.	Se medirán los halos de inhibición en un medio de cultivo de agar específico.	Placas de Petri, medio de cultivo específico, cristalería, regla de medición, cultivo de <i>Cándida albicans</i> .
Crema	Forma farmacéutica en emulsión sólida. Poseen una consistencia relativamente suave y untada. Se pueden formular como una emulsión de agua en aceite o como emulsión de aceite en agua (USP 38, 2015, p.1404).	Diseñar y elaborar una crema con efecto antifúngico.	Plantilla, reactivos, beakers, agitador de vidrio, balanza.

### **Instrumentos y técnicas de recolección**

En el siguiente apartado se, describirán los instrumentos, métodos y técnicas por utilizar para realizar los procedimientos y pruebas necesarias para el desarrollo de la siguiente investigación. Esto se llevará a cabo en el laboratorio de la Universidad Internacional de las Américas y en el Laboratorio microbiológico Microlabs.

### **Proceso de recolección de la muestra de Orégano**

El material vegetal utilizado fue obtenido del vivero San Luis, propiedad del señor Luis Guevara, ubicado en San Ramón, Alajuela, Costa Rica durante el mes de febrero del presente año.

La muestra consistió en material fresco, verde, en el que se realizó la separación de las hojas del tallo y raíces previo a su utilización en el laboratorio de la Universidad. Para lograr una conservación adecuada del material se mantuvo en refrigeración envuelto en papel toalla y en bolsa plástica a una temperatura que oscilaba entre los 10-15° C.

**Materiales y equipo para la obtención del aceite esencial de *Origanum vulgare* (Orégano)  
por el método de arrastre de vapor**

Los instrumentos por utilizar en el laboratorio para desarrollar el presente trabajo serán:

Beakers de 250mL

Beakers de 500mL

Balanza analítica marca Ballar

Balón de tres bocas con capacidad de 500mL

Goteros

Pipetas

Termómetros de vidrio de columna de mercurio

Probeta de 5 mL.

Probeta de 500 mL

Probeta de 100 mL

Refrigerante para destilación

Alargadera para destilación

Balón de una boca

Mangueras de caucho para conexiones

Calentador- agitador magnético

Embudo separador 250 mL

Soporte universal

Prensa universal

Pastilla magnética

Pescador pastilla magnética

Piseta

Agua destilada

Erlenmeyer de 250mL

Papel toalla

Orégano: Muestra de 300g

Espátula canalada

Agitador de vidrio

Recipiente para guardar la crema

Vial para conservar el aceite esencial

Cinta adhesiva

Etiquetas

**Reactivos:**

Agua destilada

Ácido clorhídrico concentrado

Ácido clorhídrico al 1%

Magnesio metálico

Ácido sulfúrico concentrado

Alcohol etílico

Alcohol cetílico

Cera de abejas

Lauril sulfato de sodio

Propilenglicol

Ácido clorhídrico

Reactivo Dragendorff

Cloroformo

Anhídrido acético

Ácido acético concentrado

Cloruro de hierro III

Cloruro de hierro III al 10%

Hexano

#### **Método de extracción del aceite esencial *Origanum vulgare* (orégano) por arrastre de vapor**

1. En un balón de tres bocas, limpio, seco y previamente pesado, se midió 50g de la planta fresca en balanza granataria con ayuda de un beaker de 2000mL que se utilizó como base del balón. Una vez dispuesta la planta dentro del balón se le adicionó 150mL de agua destilada medidos en probeta de 100 mL.
2. Al balón de 2000 ml de una boca se le agregó 500ml de agua destilada con la ayuda de una probeta del mismo volumen agregado.
3. Ambos balones se adaptaron a un sistema para destilación por arrastre de vapor, encendiendo el calentador- agitador manteniendo la temperatura y la agitación constante para generar vapor de agua, manteniendo la temperatura por debajo del punto de ebullición del agua en la muestra vegetal.
4. El tiempo de destilación lo dio la cantidad de producto condensado, esto según la capacidad del Erlenmeyer colector, aproximadamente entre 3-4 horas de esta manera se obtuvo un volumen de aproximadamente 150mL de extracto.

5. Los extractos acuosos del aceite se taparon, se rotularon y se almacenaron en refrigeración a una temperatura entre 5-10° C aproximadamente por 2 días.
6. El procedimiento mencionado se realizó con tres equipos al menos en cinco ocasiones.

**Figura 41. Método de Extracción del Aceite Esencial de *Origanum vulgare* por Arrastre con Vapor**



### **Proceso de purificación del extracto de *Origanum vulgare***

1. En un embudo separador de 250 mL previamente limpio y seco se colocó el extracto el cual resultó en una mezcla agua-aceite esencial.
2. Seguidamente en una probeta de 100 mL previamente limpia y seca, se midió 50 mL de hexano el cual se vertió en el embudo que se mencionó anteriormente; este compuesto se agregó dos veces para garantizar la separación adecuada de las fases.
3. La fase orgánica obtenida se vertió en un erlenmeyer de 250 mL previamente limpio y seco.
4. Durante todo el proceso fue importante proteger de la luz, para ello se colocó papel aluminio alrededor del erlenmeyer.

5. En el equipo de rotavapor a una temperatura de  $70^{\circ}\text{C}$  y a una velocidad de giro de 50 rpm, se colocó la fase orgánica obtenida.
6. Finalmente con la ayuda de una probeta de 5 mL de capacidad se midió la cantidad de aceite esencial obtenido, la cual resultó en 1,50 mL.

**Figura 42. Proceso de Purificación del Extracto Obtenido**



**Figura 43. Proceso de Obtención del Aceite Esencial**



### Identificación de grupos funcionales por espectroscopia infrarroja

Para la realización de dicho análisis, se emplea el equipo disponible en el Laboratorio de Química de la Universidad Internacional de las Américas. Espectrómetro infrarrojo marca Agilent Technologies, modelo: Cary 630 FTIR.

El procedimiento se detalla a continuación:

1. Primeramente se encendió el equipo, se dejó calentar la lámpara y se activó el software “Microlab PC”.
2. Seguidamente se introdujo la contraseña y se procedió a utilizar por medio de la computadora.
3. Se limpió el porta muestras con acetona pura y papel higiénico suave “Klenex” para no rayar el lente. Seguido a esto se presionó el botón “next” y se verificó que el porta muestras estuviera adecuadamente limpio.
4. Se activó la opción de correr y se procedió a agregar la muestra de la sustancia a analizar, equivalente a 50 uL sobre todo el lente.
5. Se realizó el escaneo y se obtuvo el espectro para la muestra en estudio y se identificó los principales grupos funcionales.
6. Finalmente, se comparó el espectro obtenido con el reportado en la literatura, esto para el principal componente el cual es el carvacrol.

**Figura 44. Espectrofotómetro Infrarrojo IR Usado para la Identificación de Grupos Funcionales en el Aceite Esencial de *Origanum vulgare***



## **Pruebas de identificación química de grupos funcionales**

### **Identificación de alcaloides mediante el ensayo con reactivo Dragendorff**

1. Se procedió a trabajar en una cámara extractora de gases.
2. En un tubo de ensayo limpio y seco, y con la ayuda de un gotero limpio se colocaron 2 gotas de aceite esencial de la planta y a esto se le agregó 2 mL de alcohol etílico con la ayuda de una probeta de 5 mL.
3. Seguidamente con la ayuda de una probeta de 5 mL se adicionó 1mL de HCl al 1%, y mediante la ayuda de un gotero se adicionó 2 gotas de reactivo de Dragendorff.
4. Se realizó la prueba con un blanco al cual no se le agregó el aceite esencial en estudio, y así se pudo comparar el resultado obtenido. La prueba dio positiva si se reflejó la formación de un precipitado naranja o color rojo ladrillo.

### **Identificación de Terpenos mediante la prueba de Libermann- Burchard**

1. Se procedió a trabajar en una cámara extractora de gases.
2. En un tubo de ensayo limpio y seco se colocó con la ayuda de un gotero limpio dos gotas de aceite esencial de orégano y con la ayuda de una probeta de 5 mL, 1 mL de cloroformo y se procedió a agitar suavemente.
3. Con la ayuda de una probeta de 5 mL se adicionó 1mL de anhídrido acético y se agitó vigorosamente.
4. Con cuidado y con la ayuda un gotero se agregó gota a gota ácido sulfúrico concentrado, no más de tres gotas, se evitó agitar la muestra.
5. Adicionalmente se realizó la prueba con un blanco al cual no se le agregó el aceite esencial en estudio.
6. La prueba dio positiva si se reflejó la formación de un color verde o café oscuro.

### **Identificación de flavonoides: Ensayo de Shinoda**

1. Se colocó tres gotas del aceite esencial en estudio en un tubo de ensayo limpio y seco, a este se le agregó con la ayuda de una probeta de 5 mL, 1 mL de alcohol etílico y se procedió a agitar. Además se adicionó pequeñas cantidades de magnesio metálico.
2. Con la ayuda de una bureta se agregó 0,50 mL de ácido clorhídrico concentrado y se agitó vigorosamente.

3. La prueba también se realizó con blanco que permitió compararlo con el resultado que se obtuvo para la muestra en estudio.
4. La prueba dio positiva si se reflejó una coloración amarillo, naranja, rojo o café oscuro.

### **Identificación de Antraquinonas**

1. Con la ayuda de un gotero limpio se colocó 2 gotas de aceite esencial en un tubo de ensayo limpio y seco, a este se le agregó con la ayuda de una probeta de 5 mL, 1 mL de solución de cloruro de hierro al 10%.
2. Seguidamente se adicionó con la ayuda de una probeta de 5 mL, 1 mL de ácido clorhídrico concentrado.
3. Después de esto se dejó enfriar el extracto y se extrajo las antraquinonas liberadas con 2 mL de cloroformo.
4. Adicionalmente, se preparó una prueba blanco que permitió la comparación con la prueba de la muestra en estudio.
5. La prueba dio positiva si se reflejó una coloración rojo-rosa en la solución.

### **Identificación de fenoles**

1. Primeramente, con la ayuda de un gotero se agregó dos gotas de aceite esencial en un tubo de ensayo previamente limpio y seco.
2. Seguidamente se adicionó con una probeta de 5 mL, 1 mL de cloruro de hierro III y se agitó suavemente.
3. La prueba dio positiva si se reflejó una formación de color rojo, azul, verde o púrpura.

### **Pruebas microbiológicas de identificación de actividad antifúngica del aceite esencial de *Origanum vulgare*.**

#### **Evaluación de la actividad antifúngica sobre *Cándida albicans***

##### *Materiales y equipos utilizados*

Medio de cultivo tripticase dextrosa

Regla con escala métrica

Cámara de flujo laminar

Incubadora

*Reactivos utilizados*

Nistatina crema 15g fabricante Alcames

Terbinafina crema 20g fabricante Genfar

Clotrimazol crema 40g fabricante Genfar

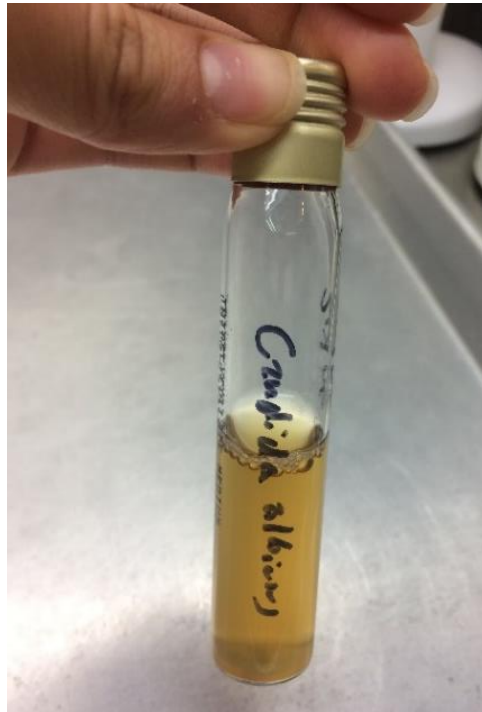
Aceite esencial *Origanum vulgare* (Orégano)

Cepa de *Cándida albicans* ATCC 10231.

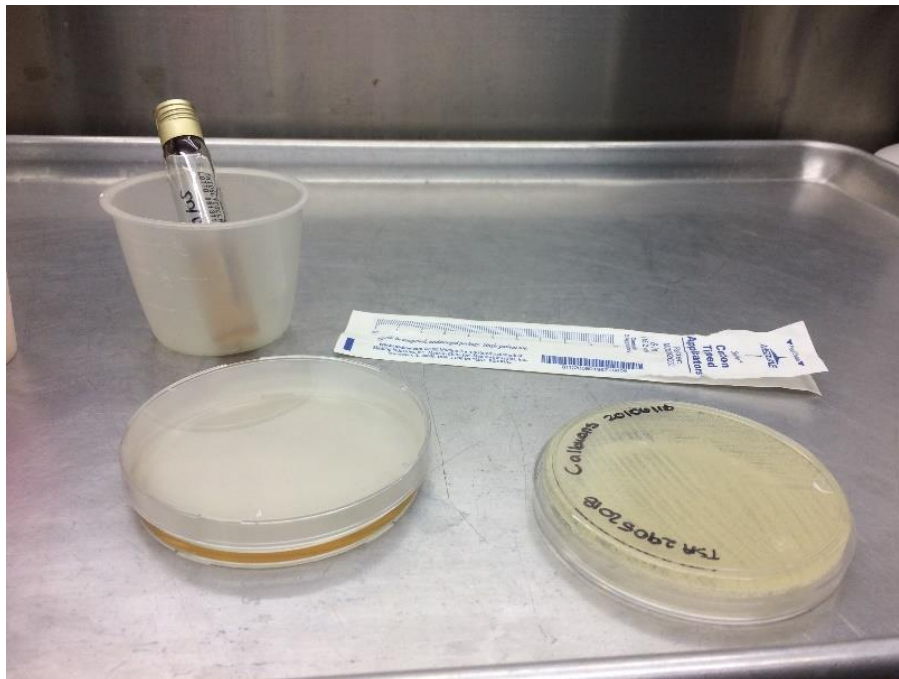
**Método para determinar la actividad antifúngica del aceite de *Origanum vulgare* frente a *Cándida albicans***

1. Se vertió agar tripticase dextrosa sobre una placa de Petri y se esperó algunos minutos hasta que tuviera una consistencia gelificada.
2. Seguidamente con un hisopo estéril se esparció la cepa en cuatro direcciones diferentes para cubrir toda el área. Veinticuatro horas previas la cepa original fue enriquecida en un medio de tioglicolato, esto para que se encontrara en una fase logarítmica, es decir, de crecimiento.
3. Después con la ayuda de una punta de pipeta estéril se realizaron cinco orificios pequeños de aproximadamente 0,5 cm de diámetro, estos para cada uno de los medicamentos.
4. Se colocó cada medicamento en cada orificio de la placa.
5. Finalmente, se guardó la placa durante 48 horas en una incubadora que se encontraba entre los 35- 37 ° C.

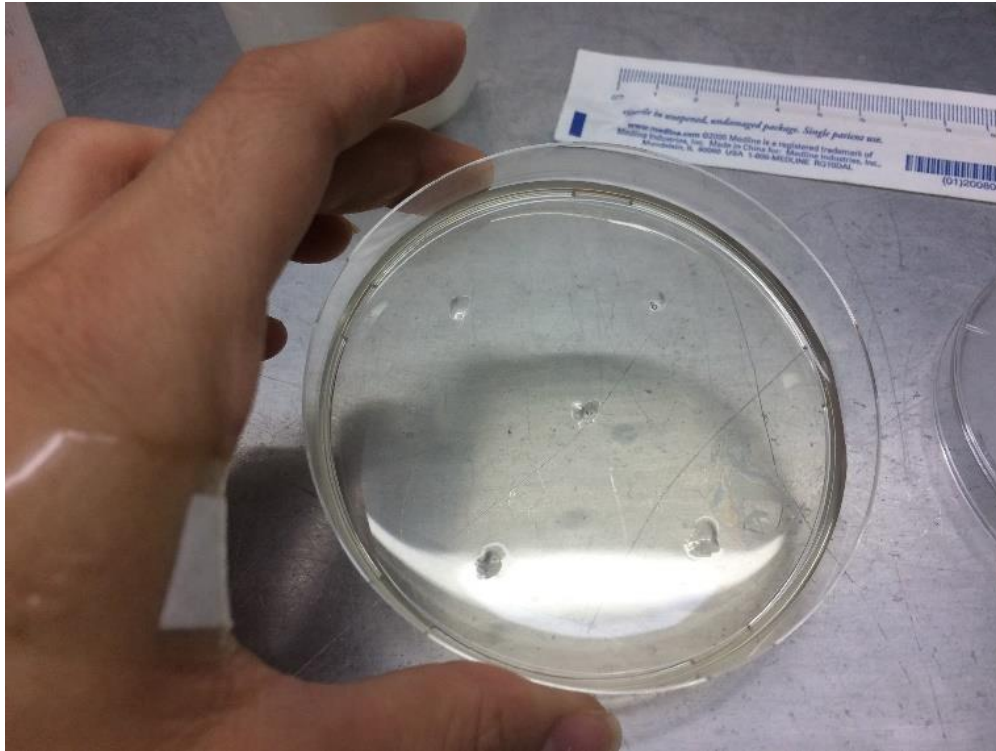
**Figura 45. Cepa de *Cándida albicans* en Medio de Tioglicolato**



**Figura 46. Placa de Petri Rayada con la Cepa de *Cándida albicans***



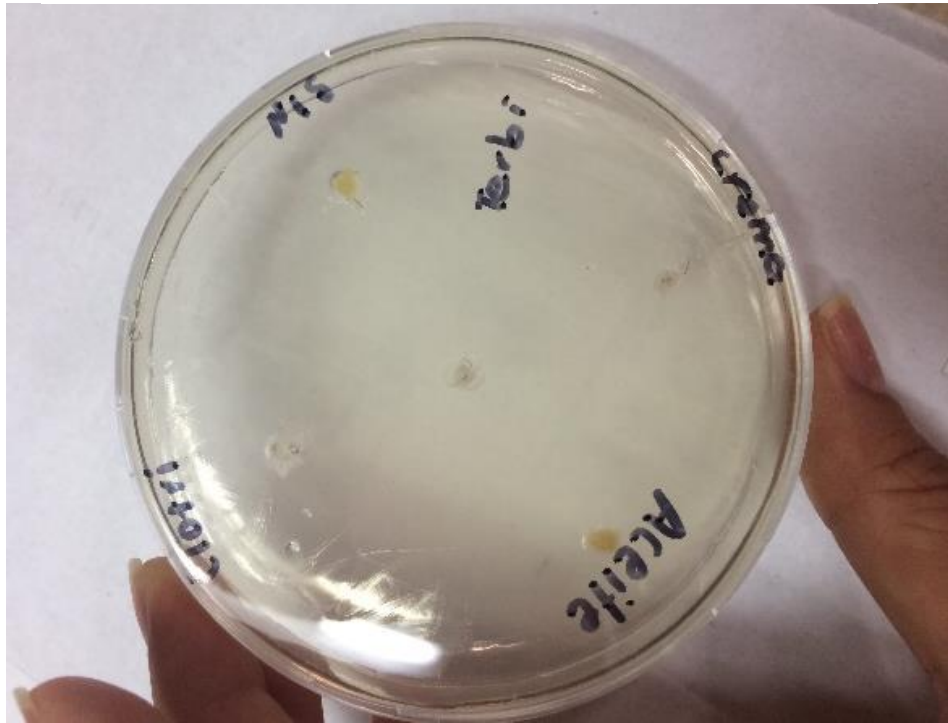
**Figura 48. Placa de Petri con las Perforaciones para los Medicamentos**



**Figura 47. Sustancias por Colocar en las Perforaciones de la Placa de Petri**



**Figura 50. Sustancias Colocadas en la Placa a Analizar**



**Figura 49. Incubadora**



### **Procedimiento para la elaboración de la crema con el aceite esencial obtenido.**

1. Se procedió a pesar las siguientes cantidades de los reactivos que se necesitaron para fabricar la crema:  
Alcohol cetílico 15g  
Cera de abejas 1g  
Lauril sulfato de sodio 2g  
Propilenglicol 10g  
Agua purificada 71,5g
2. En un beaker de 250 mL limpio y seco, se pesó el alcohol cetílico, cera de abejas y el propilenglicol, se colocó sobre el calentador a 40° C y se mezcló hasta que se obtuviera una mezcla homogénea.
3. En un segundo beaker de 250 mL se pesó el lauril sulfato de sodio y el agua, y se procedió a mezclar y se calentó a 40° C.
4. Una vez que se tuvieron las sustancias de los beakers disueltas y a la misma temperatura, se vertió el contenido del segundo beaker en el primer beaker poco a poco y se mezcló vigorosamente, esto hasta que se obtuviera una consistencia característica de una crema.
5. Finalmente, con la ayuda de una bureta se agregó 0,5 mL de aceite esencial de *Origanum vulgare* a la mezcla anterior.

**Figura 51. Reactivos utilizados para la elaboración de la crema**



## CAPÍTULO IV: ANÁLISIS DE RESULTADOS

Los resultados e información que se muestran en este apartado son producto de la investigación realizada y de las variables planteadas a partir de los objetivos específicos delimitados.

### **Extracción y purificación del aceite esencial de *Origanum vulgare* (Orégano) obtenido mediante el método de arrastre con vapor.**

El material vegetal previo a ser usado fue sometido a una selección de las partes de interés eliminando hojas secas, tallos y raíces. Se verificó que el material fuera verde, fresco en buenas condiciones, además, para proceder a almacenarlo se utilizó papel toalla y se mantuvo en bolsa plástica para protegerlo y así poder refrigerarlo.

Para dicha investigación se utilizó las hojas del orégano ya que estudios realizados como los de Villavicencio et al, (2016) y Flores et al, (2011) reportan la utilización de las hojas de la planta para obtener el aceite esencial.

En la figura 52, que se muestra a continuación, se puede observar la selección de las hojas para realizar la destilación por el método de arrastre con vapor.

**Figura 52. Partes de la planta por utilizadas para obtener aceite esencial de orégano**



Para el método de arrastre con vapor se pesó, por triplicado, 50g de la muestra vegetal, ya que en el laboratorio de la Universidad se contaba únicamente con balones de tres bocas de 250 mL, siendo de muy poca capacidad, además, no se contaba con disponibilidad de muchos equipos.

Se eligió el método de arrastre en corriente de vapor, porque a diferencia del método que emplea el equipo soxhlet, no se extrae una importante cantidad de compuestos no deseados tales como grasas, ceras e inclusive clorofila, (Penredo, Palou-García y López, 2009). De esta manera se obtuvo extractos menos contaminados y se facilitó la purificación del mismo.

Una vez que se finalizó la destilación se obtuvo extractos incoloros, de fuerte olor a orégano y con algunas gotas de aceite visibles. Los extractos se mantuvieron en baño de hielo para evitar que se evaporara los componentes orgánicos que pudiera contener el aceite esencial, así como protegidos de la luz y el calor, con el fin de evitar posibles reacciones indeseadas.

Si no se realizó la separación el mismo día que se obtuvo el extracto, se procedió a mantener en refrigeración.

**Figura 53. Extracto Destilado Obtenido por Destilación por Arrastre con Vapor**



Una vez que se obtuvo el destilado se procedió a separar la fase orgánica de la acuosa, con el fin de dar inicio a la purificación del aceite.

Para separarlo, se colocó el extracto en un embudo separador de capacidad de 250 mL y se le agregó como solvente orgánico hexano, tal y como lo indica Brum et al, (2009) en su investigación, de esta forma, el agua se colocaría en la parte de abajo y el hexano en la parte de arriba, ya que las densidades corresponden respectivamente a  $1,00 \text{ g/cm}^3$  y  $0,675 \text{ g/cm}^3$  como lo indica Patiño, (2000). Con esto, se eliminó la fase acuosa abriendo la llave del embudo y la fase orgánica se eliminó vertiéndola por la parte superior del embudo.

**Figura 54. Proceso De Purificación Del Extracto de *Origanum vulgare* Obtenido Mediante Destilación Por Arrastre Con Vapor.**



Se agregó por duplicado mediante una probeta de 100 mL, 50 mL de hexano, para lograr una separación adecuada de las fases.

Una vez que se contó con los extractos orgánicos, el disolvente se eliminó mediante destilación a presión reducida, a través del evaporador rotatorio (rotavapor). Para esto, se aplicó una temperatura de 70 °C ya que el punto de ebullición del hexano corresponde a 68 °C tal y como lo menciona Griffin, (1981); con esto se evitó someter el aceite a temperaturas muy elevadas en las que se pudiera tener pérdidas por descomposición.

Una vez obtenido el aceite esencial se procedió a unirlos y medirlos en una probeta obteniendo una cantidad neta de 1,5 mL.

**Tabla 8. Características Organolépticas Del Aceite Esencial De *Origanum vulgare* Obtenido En El Laboratorio De Química De La Universidad Internacional De Las Américas.**

<b>Propiedad física</b>	<b>Aceite esencial <i>Origanum vulgare</i></b>
Color	Ámbar
Olor	Dulce, fuerte
Aspecto	Brilloso, homogéneo
Textura	Oleosa al contacto con la piel

**Figura 55. Aceite Esencial De *Origanum vulgare* Obtenido**



### **Identificación de los metabolitos activos presentes en el aceite esencial de *Origanum vulgare***

Primeramente, se identificaron los metabolitos activos por medio de pruebas cualitativas, seguidamente se realizó el análisis por espectroscopía infrarroja y de esta forma se procedió a compararlo con el encontrado en la bibliografía.

### **Determinación de la presencia de alcaloides**

Se utilizó el reactivo de Dragendorff el cual está compuesto de tetrayoduro bismuto de potasio ( $\text{KBiI}_4$ ), y que resulta positivo al formarse un precipitado anaranjado- marrón (Domínguez,

1985). Cabe destacar que en la prueba realizada al aceite esencial no dio positiva, además, se realizó un blanco para observar las diferencias con el resultado de la prueba.

**Figura 56. Prueba De Dragendorff**



### **Determinación de la presencia de terpenos**

Se utilizó el reactivo de Libermann- Buchard, para esto se le agregó previamente a la muestra de aceite esencial de *Origanum vulgare* cloroformo, anhídrido acético se agitó suavemente y se agregó el ácido sulfúrico concentrado evitando agitar (Domínguez, 1985). Se dejó reposar y se esperó que se diera el resultado de la prueba, la cual para este caso resultó positiva ya que hubo un cambio en la coloración de incoloro a un café sumamente tenue, pudiendo deberse esto a la poca cantidad de aceite esencial que se agregó, aproximadamente dos gotas. Además, se realizó un blanco para observar las diferencias que se pudieran dar con la prueba que contenía el aceite.

**Figura 57. Prueba De Libermann- Buchard**

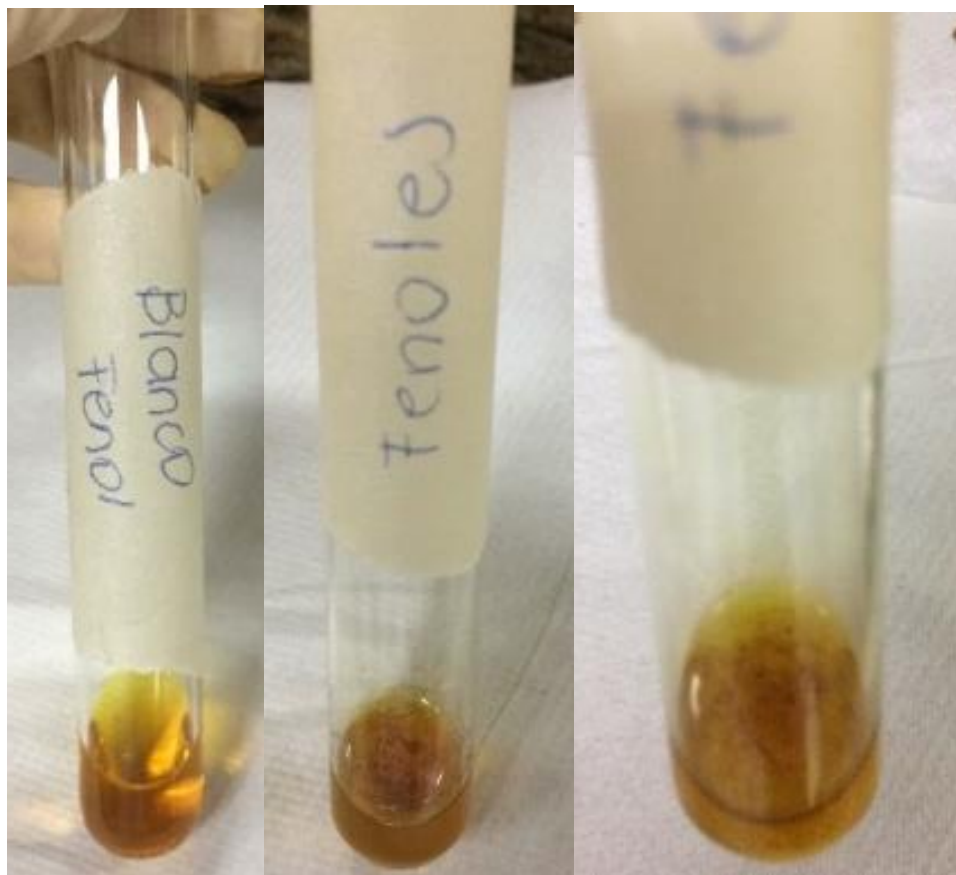


### **Determinación de la presencia de flavonoides**

Se utilizó la prueba de Shinoda, en la cual se agregó tiras de magnesio y ácido clorhídrico concentrado se dio una coloración amarilla o anaranjada oscura (Domínguez, 1985). Para el análisis con el aceite esencial de *Origanum vulgare* se realizó un blanco para poder compararla con la prueba que contenía el aceite, se obtuvo un resultado negativo, ya que no hubo cambio en la coloración.

**Figura 58. Prueba De Shinoda****Determinación de la presencia de fenoles**

La verificación de la presencia de fenoles, se realizó mediante la prueba con cloruro de hierro III. Para esto, se le adicionó este reactivo al aceite obtenido, con lo que se observó una coloración rojiza leve, esto se pudo deber a la poca cantidad de aceite que se agregó. Esto corresponde a un resultado positivo.

**Figura 59. Prueba De Identificación De Fenoles****Determinación de la presencia de antraquinonas**

Consistió en agregarle al aceite esencial de *Origanum vulgare* en estudio cloruro de hierro III al 10%, ácido clorhídrico concentrado y una vez que estuviera frío se le agregó cloroformo para extraer las antraquinonas, de esta manera la prueba resultaría positiva si se formaba una coloración rosada-rojiza (Domínguez, 1985) ; sin embargo, para la muestra en estudio resultó negativa ya que al compararla con el blanco aunque hubo cambio de coloración, esta no fue rosada que mostraría la presencia de las antraquinonas.

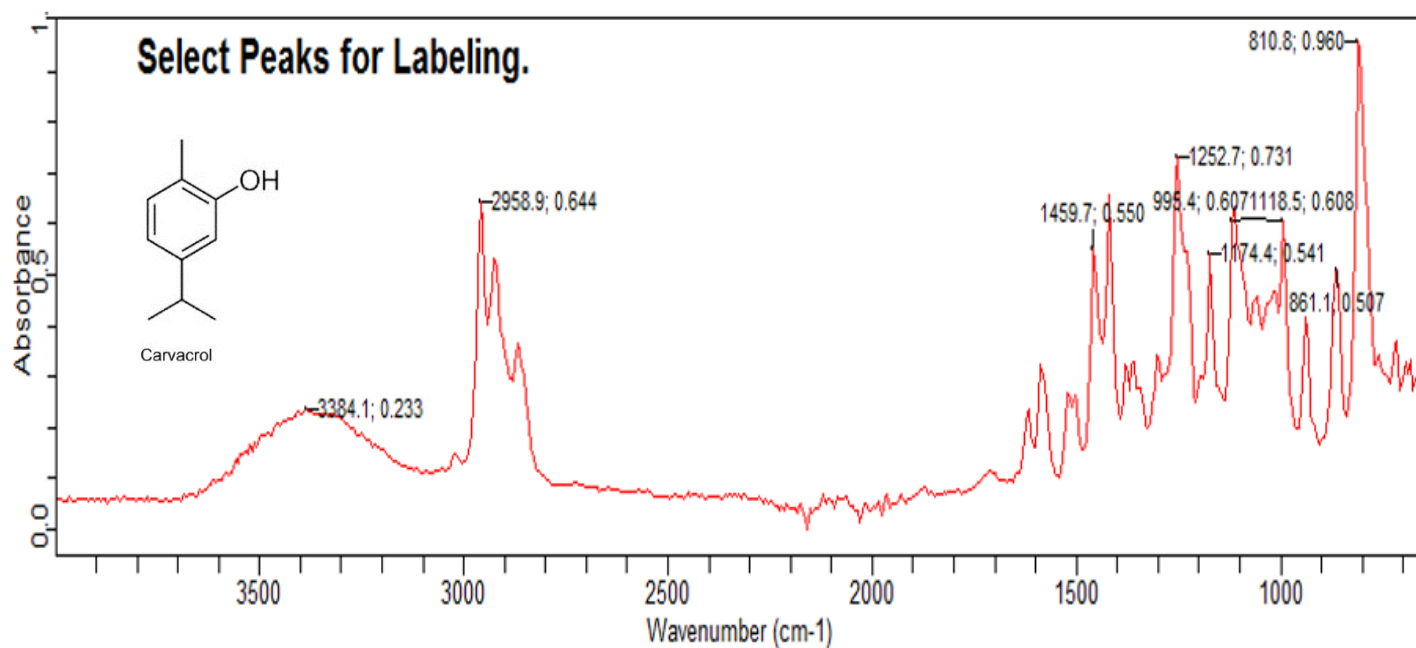
**Figura 60. Prueba De Identificación De Antraquinonas****Tabla 9. Pruebas Cualitativas Realizadas**

Tipo de reacción	Componente	Observación	Resultado
Dragendorff	Alcaloides	No hubo cambio en la coloración	Negativa
Libermann-Buchard	Terpenos	Coloración café muy tenue	Positiva
Shinoda	Flavonides	No hubo cambio en la coloración	Negativa
Fenoles	Fenoles	Coloración rojiza ladrillo	Positiva
Antraquinonas	Antraquinonas	No hubo cambio en la coloración	Negativa

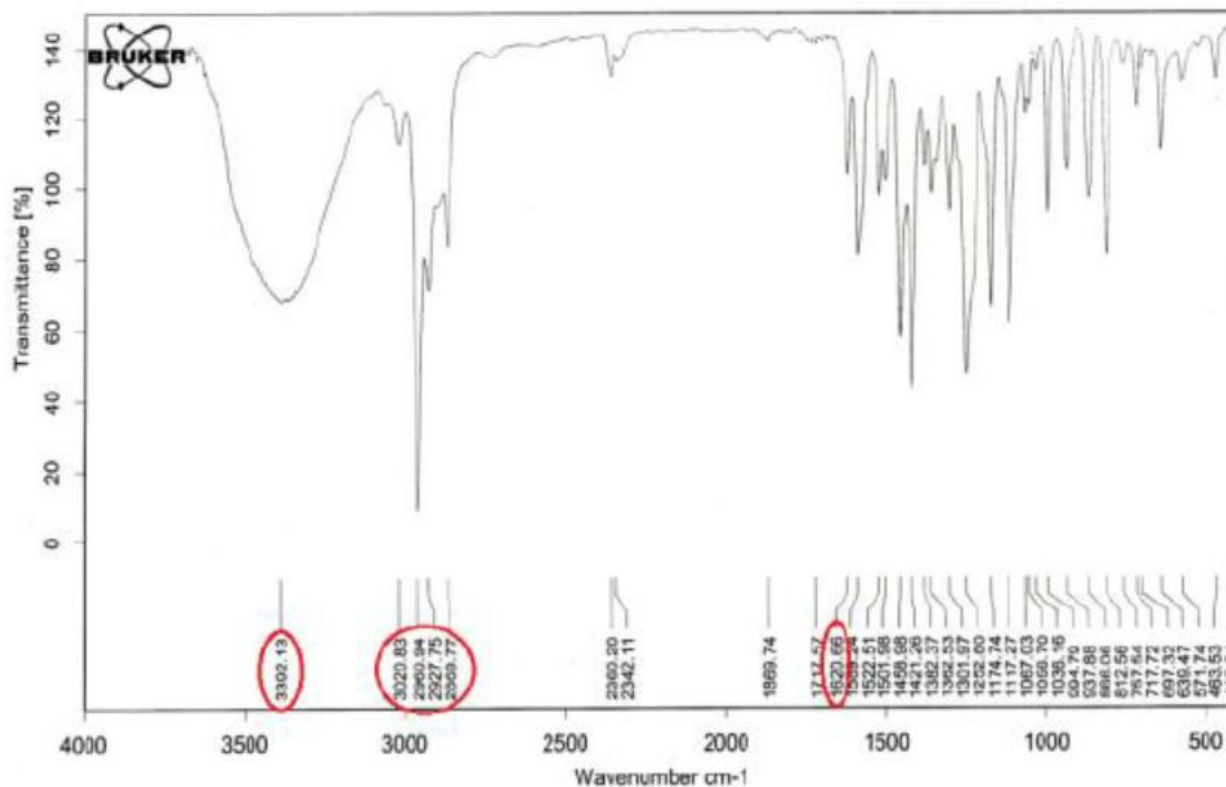
### Análisis del aceite esencial de *Origanum vulgare* por espectroscopia infrarroja IR

En esta parte de la investigación, se procedió a someter el aceite esencial de *Origanum vulgare* obtenido por el método de destilación por arrastre con vapor, al análisis por espectroscopia infrarroja utilizando el equipo que se encuentra en las instalaciones del laboratorio de química de la Universidad Internacional de las Américas, marca Agilent Technologies, modelo Cary 630 FTIR. Una vez que se obtuvo el espectro experimental se procedió a comparar con el espectro reportado en la literatura y a rescatar las señales denotadas, así como el compuesto al que pertenecían.

**Figura 61. Espectro Del Aceite Esencial De *Origanum vulgare* Obtenido En La Universidad Internacional De Las Américas**



**Figura 62. Espectro Del Aceite Esencial De *Origanum vulgare* Obtenido En La Literatura**



**Tabla 10. Señales Detectadas En El Espectro Del Aceite Esencial De *Origanum vulgare* Obtenido En La Universidad Internacional De Las Américas**

Muestra	Señal detectada (cm <sup>-1</sup> )	Grupo funcional	Rango de la señal teórica (cm <sup>-1</sup> )
Aceite esencial <i>Origanum vulgare</i>	3384	O-H	3650-3200
Aceite esencial <i>Origanum vulgare</i>	2958	C-H	3000-2850
Aceite esencial <i>Origanum vulgare</i>	1459	N=O	1550-1350

Aceite esencial <i>Origanum vulgare</i>	1252	C-N	1350-1000
Aceite esencial <i>Origanum vulgare</i>	1174	C-N	1350-1000
Aceite esencial <i>Origanum vulgare</i>	1118	C-N	1350-1000
Aceite esencial <i>Origanum vulgare</i>	3000	C=C	3100-3050
Aceite esencial <i>Origanum vulgare</i>	1600	C=C aromático	1600-1475

La señal detectada para el O-H del fenol se encontró en  $3384\text{ cm}^{-1}$  siendo media comparado con el rango que se encuentra en la literatura; además, los resultados de las pruebas evidenciaron la presencia del carvacrol, el IR mostró las señales para los compuestos orgánicos presentes en la molécula del carvacrol, como lo fueron el fenol, alquenos, y el compuesto aromático, además, la prueba cualitativa con cloruro de hierro III resultó positiva, con esto se mostró la presencia del fenol, demostrando que dichas pruebas fueron contundentes para corroborar la presencia de los compuestos y en especial y el de gran importancia el carvacrol, que fue el compuesto en estudio.

#### **Evaluación del efecto antifúngico del aceite esencial de *Origanum vulgare* sobre cepas de *Cándida albicans* mediante la medición de halos de inhibición.**

En este apartado de los resultados se realizaron las pruebas microbiológicas que permitieron medir la capacidad antifúngica del aceite esencial de *Origanum vulgare* obtenido en el laboratorio de la Universidad Internacional de las Américas frente a cepas de *Cándida albicans* ATCC 10231. En este proceso se empleó Nistatina, Terbinafina y Clotrimazol, todos en crema, como medicamentos control. así como también la crema que se realizó con el aceite esencial que se obtuvo.

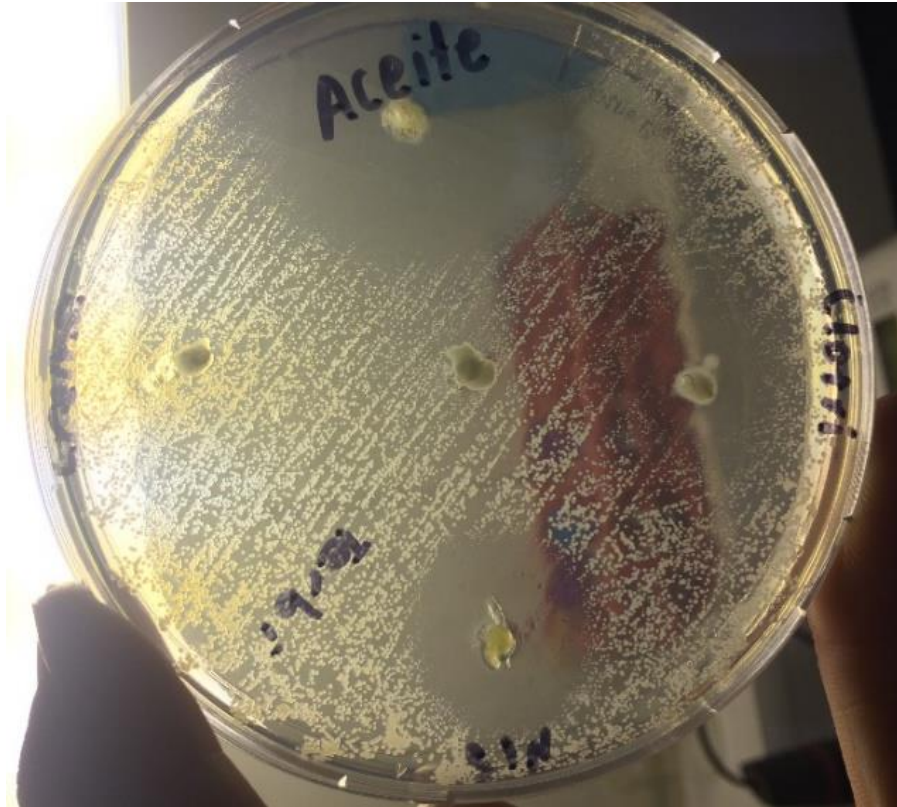
Para esto, primeramente se replicó la cepa de *Candida albicans* en un caldo de tioglicolato durante 24 horas para que se diera el crecimiento mayor de los hongos. Después de esas 24 horas se rayó el agar de tripticase dextrosa el cual fue recomendado por el Dr. Ajún y que funcionó igual que el agar sabouraud; en cuatro direcciones perpendiculares hasta que quedó totalmente cubierto el agar de la cepa del hongo. Finalizado este procedimiento, se realizó cinco orificios de aproximadamente 0,5 cm con las puntas de buretas estériles sobre el agar, para que fueran uniformes y así se pudo colocar una pequeña muestra de las sustancias a analizar en cada orificio.

Se mantuvo en una incubadora con una temperatura que osciló entre los 35-37 ° C y se esperó 24 horas a que crecieran los halos, y una vez que se midió se obtuvo los resultados que se muestran a continuación en la Tabla 11.

**Tabla 11. Análisis De Actividad Frente A *Cándida albicans* Mediante Halos De Inhibición, Del Extracto De *Origanum vulgare* Y Medicamentos Control.**

<b>Sustancia utilizada</b>	<b>Medida del halo obtenida/ cm</b>
Aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i>	3,4
Crema del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i>	No hubo halo de inhibición
Terbinafina 20g en crema	No hubo halo de inhibición
Nistatina 15g en crema	1,9
Clotrimazol 40g en crema	1,3

**Figura 63. Halos De Inhibición Obtenidos**



Como se muestra en la Figura 63 el halo de mayor tamaño fue el del aceite esencial de *Origanum vulgare* demostrando con esto que es muy efectivo frente a *Cándida albicans* y es un potencial medicamento para tratar esta patología, debido a que actualmente hay varias familias de anti fúngicos que presentan poca efectividad frente a este hongo.

Por otra parte, tal y como se había mencionado, nistatina y clotrimazol demuestran que son buenos anti fúngicos para tratar el hongo en estudio; sin embargo, nistatina ocupa el segundo lugar en cuanto a efectividad y el clotrimazol el tercer lugar, ya que los halos de inhibición así lo demuestran.

En cuanto a terbinafina, aunque tal y como se indicó anteriormente son parte del tratamiento para tratar *Cándida albicans* los resultados de pruebas microbiológicas no demuestran efectividad frente al hongo en estudio, esto pudiendo deberse a que *Cándida* es capaz de formar biopelículas

mediante polímeros lo que facilita la unión y le da mayor capacidad defensiva y una mayor resistencia a los anti fúngicos (Arenas, 2015). Además, cabe resaltar que *Cándida albicans* posee una capacidad de cambiar su forma de levadura a hifa lo que le confiere la posibilidad de una asociación fuerte y con esto se ve incrementado el potencial patógeno (Ryan y Ray, 2017).

Además, tal y como lo menciona Ryder, Wagner y Leitner en su estudio realizado en el instituto de investigación de la compañía farmacéutica Novartis, terbinafina es un medicamento poco utilizado contra Cándida; sin embargo, su poco uso se ha centrado en el tratamiento de las onicomycosis producidas por dicho hongo. Cabe destacar que su efectividad se observa en gran medida sobre las cepas de *Cándida parapsilosis*, ya que estudios in vitro realizados anteriormente han demostrado la resistencia de *Cándida albicans* sobre este medicamento. Al realizarse tan pocos estudios sobre este problema no se ha podido determinar el mecanismo por el cual se muestra la resistencia de este fármaco, sin embargo, en este estudio mencionan que puede tener alguna relación con la enzima diana de la terbinafina, la escualeno epoxidasa presente en los hongos.

En cuanto a la crema que contenía el aceite esencial no se mostró halo de inhibición, pudiendo deberse esto a que la cantidad de aceite de *Origanum vulgare* que se le agregó a la base de la crema que era de 100 g fue muy poca aproximadamente 0,5 mL. Por esto Cándida no se vio inhibida y por ende se vio favorecido el crecimiento de dicho hongo. Además al ser tan poca cantidad no fue posible determinar la concentración mínima inhibitoria; además, sería de gran importancia poder realizar estudios que permitan evidenciar si se presentan reacciones adversas al producto farmacéutico.

### **Formulación de una crema anti fúngica de uso tópico a partir del aceite esencial de *Origanum vulgare***

Para este apartado se procedió a elaborar una crema con el aceite esencial de *Origanum vulgare* que se obtuvo en el laboratorio de la Universidad Internacional de las Américas, para esto se utilizó la técnica de agitación, calentamiento, mezclado y disoluciones de los componentes que se utilizaron.

**Figura 64. Reactivos Utilizados Para La Obtención De La Crema De *O. vulgare*.**



**Tabla 12. Componentes Utilizados Para Formular La Crema**

<b>Materia prima</b>	<b>Porcentaje o cantidad</b>
Alcohol cetílico	15%
Cera de abejas	1%
Lauril sulfato de sodio	2%
Propilenglicol	10%
Aceite esencial de Origanum vulgare	0,5 mL
Agua purificada	71,5%

**Figura 65. Producto Terminado Etiquetado Realizado En La Universidad Internacional De Las Américas**



El producto terminado es de fácil aplicación tópica, se debe masajear un poco para diseminar adecuadamente la capa de crema. A continuación, la Tabla 13 muestra las características organolépticas del producto terminado obtenido.

**Tabla 13. Características Organolépticas De La Crema Del Aceite Esencial De *Origanum vulgare***

<b>Propiedades organolépticas</b>	<b>Resultado mostrado</b>
Color	Blanco hueso
Textura	Grasosa y viscosa al tacto
Olor	Dulce, fuerte
Aspecto	Homogéneo

Una vez que se obtuvo la consistencia de crema deseada se procedió a envasarla en un recipiente de los que se encontraban en el laboratorio de la Universidad Internacional de las Américas, el cual estaba estéril, sellado y en buenas condiciones. Consta de un recipiente de plástico, de tapa de rosca lo cual permite que se mantenga en óptimas condiciones.

## CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Al concluir el presente trabajo de investigación, se considera de gran importancia aportar las siguientes conclusiones:

- ❖ El método de arrastre con vapor demostró eficacia para obtener el aceite esencial de *Origanum vulgare*.
- ❖ Las pruebas cualitativas y espectroscopia infrarroja fueron contundentes para identificar los compuestos orgánicos.
- ❖ El espectro infrarrojo demostró adecuadamente la presencia de carvacrol en el aceite.
- ❖ El aceite esencial puede utilizarse para elaborar cremas.
- ❖ El aceite esencial presentó mayor eficacia frente a *Cándida albicans*, en segundo lugar la nistatina y en tercer lugar el clotrimazol.
- ❖ La terbinafina no es un fármaco adecuado para tratar *Cándida albicans*.
- ❖ A la formulación de la crema no se le agregó preservantes para evitar que interfirieran en los resultados.

Es importante realizar algunas recomendaciones las cuales podrán ser de gran aporte para futuras investigaciones:

- ❖ Se recomienda para futuras investigaciones poder contar con un estándar de referencia para poder comparar tanto las pruebas cualitativas como la prueba de espectroscopia infrarroja y así complementar los resultados que se obtuvieron en esta investigación.
- ❖ Se podría complementar esta investigación determinando si dicho aceite esencial podría ser útil para otros hongos o microorganismos que son de interés en la salud pública.
- ❖ Realizar una investigación para determinar la concentración ideal de aceite esencial en una forma farmacéutica para que tenga efecto antifúngico y que pueda ser utilizado por la población.

- ❖ Por la poca cantidad de aceite obtenido sería más efectivo elaborar una preparación magistral o una forma farmacéutica unidosis.
- ❖ Para la universidad, es necesario que la universidad cuente con reactivos y solventes orgánicos de una calidad química superior para que no interfieran con los resultados que se obtengan, así como la adquisición de un equipo de espectroscopia de masas, ya que es necesario que los estudiantes tengan acceso y conozcan los equipos con los que se enfrentarán en su desarrollo profesional. Además, los resultados serían muy completos en las investigaciones de las futuras generaciones de la carrera de farmacia de esta Universidad.

## Referencias

- Acón, Y. (2016) Evaluación del efecto antioxidante y antimicrobiano del orégano (*Origanum vulgare*) en polvo y en oleoresina y de la mostaza china (*Brassia rapa var. Perkinensis*) en polvo, como alternativa natural en productos cárnicos. Trabajo final de graduación para optar por el título de ingeniería en alimentos. Universidad de Costa Rica. Costa Rica. Recuperado de: <http://repositorio.sibdi.ucr.ac.cr:8080/jspui/bitstream/123456789/3601/1/39482.pdf>
- Amado, S y Martínez, G. (2015) Lecciones de dermatología. México. Edición 16. Recuperado de: <https://accessmedicina.mhmedical.com/content.aspx?sectionid=99042695&bookid=1537&jumpsectionID=103415000&Resultclick=2#1119018939>
- Arcilla, C.; Loarca, G.; Lecona, S. y González, E. (2004) El orégano: propiedades, composición y actividad biológica de sus componentes. Revista ALAN, 54 (1). Recuperado de: [http://soregano.com/wp-content/uploads/2017/02/El-organo\\_-propiedade.pdf](http://soregano.com/wp-content/uploads/2017/02/El-organo_-propiedade.pdf)
- Arenas, R. (Ed.6). (2015) Dermatología. Atlas, diagnóstico y tratamiento. México: Mc Graw Hill.
- Bona,E; Cantamessa,S; Pavan,M; Novello,G; Massa,N; Rocchetti,A; Berta,G y Gamalero,E. (2016) Sensitivity of *Candida albicans* to essential oils: are they an alternative to antifungal agents?. Revista de Aplicación de la Microbiología. Italia.
- Bonifaz, A. (Ed. 5). (2015) Micología médica básica. México: Mc Graw Hill.
- Brum, M; Meinerz,A ; Xavier, M; Schuch, L; Araújo,M ; Alves, M y Braga, J. (2010) IN VITRO ACTIVITY OF ORIGANUM VULGARE ESSENTIAL OIL AGAINST CANDIDA SPECIES (ACTIVIDAD IN VITRO DE ORIGANUM VULGARE ACEITE ESENCIAL CONTRA ESPECIES CANDIDA). Revista Brasileña de microbiología. Brasil.
- Carroll, K et al. (Ed.27). (2016) Microbiología médica. México: Mc Graw Hill.
- Chamba, L. (2015) Efecto antifúngico del aceite esencial del *origanum vulgare* (orégano) y *cymbopogon citratus* (hierba luisa), sobre cepas de *cándida albicans* en comparación con la nistatina estudio invitro. Trabajo final de graduación para optar por el título de Odontóloga.

Universidad Central de Ecuador. Ecuador. Recuperado de:  
<http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/3538/1/T-UCE-0015-93.pdf>

Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI). (2017) Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 27th Ed, pp56-63.

Colpa, M. (2016) Efecto inhibitor del aceite esencial de *Origanum vulgare* (ORÉGANO) y *Mentha piperita* (MENTA) frente a cepas de *Cándida albicans*. Estudio in vitro. Trabajo final de graduación para optar por el título de cirujano dentista. Universidad Privada Norbert Wiener. Perú. Recuperado de:  
<http://repositorio.uwiener.edu.pe/bitstream/handle/123456789/580/TITULO%20-%20COLPA%20ZAMORA%20MAX%20DICKSON.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Delicl, D; Skrobonja,J; Karamanl,M; Matavuljl,M y Bogavac,M. (2013) ANTIFUNGAL ACTIVITY OF ESSENTIAL OILS OF *ORIGANUM VULGARE* AND *ROSMARINUS OFFICINALIS* AGAINST THREE *CANDIDA ALBICANS* STRAINS. Universidad of Novi Sad. Serbia. DOI: 10.2298.

Domínguez, J. (1985). Métodos de Investigación Fitoquímica. Editorial Limusa, México.

Edris, A. (2007) Pharmaceutical and Therapeutic Potentials of Essential Oils and Their Individual Volatile Constituents: A Review. Revista Wiley InterScience. Estados Unidos. Recuperado de: <https://erbeofficinali.org/dati/nacci/studi/gli%20olii%20essenziali%20.pdf>

Farmacopea Estadounidense 38- Formulario Nacional 33. 2015. USP38NF33. Sección de capítulos generales.

Flores, A.; Hernández, J.; López, J.; Valenzuela, L.; Martínez, M. y Madinaveitia; H. (2011) Producción y extracción de aceite de orégano (*lippia graveolens kunth*) bajo cultivo en la comarca lagunera. Revista mexicana cien, 2 (3). Recuperado de:  
[http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2007-11322011000100009](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-11322011000100009)

Gamazo, C., Sánchez, S. y Camacho, A. (2013). Microbiología basada en la experimentación. España: Elsevier Health Sciences.

Galehassadi, M; Rezaii, E; Najavand, S; Mahkam, M; Mohammadzadeh, G. (2014). Isolation of carvacrol from *Origanum vulgare*, synthesis of some organosilicon derivatives, and

investigating of its antioxidant, antibacterial activities. Universidad Azarbaijan Shahid Madani. Irán.

Griffin, R. (1981). Química orgánica moderna. Reverté. España.

Hernández, A. (2014). Farmacología general. Una guía de estudio. México. Recuperado de: <https://accessmedicina.mhmedical.com/content.aspx?sectionid=96949390&bookid=1489&jumpsectionID=96949398&Resultclick=2#1115735913>

Hierro, S y Archundía, A. (2013). Cirugía 2. México. Recuperado de: <https://accessmedicina.mhmedical.com/content.aspx?sectionid=94945701&bookid=1434&jumpsectionID=94945705&Resultclick=2#1114937265>

Katzung, B y Trevor, A. (Ed.13). (2016) Farmacología básica y clínica. México: Mc Graw Hill

Lakhrissi, B; Boukhraz,A; Barrahi, M; Hartiti,H y Ouhssine, M. (2016) “ Antifungal Activity of Essential Oil of Oregano (*Origanum Vulgare*), Marjoram (*Origanum Majorana*) and Synergy of Two Essential Oils against Candida Albicans” (Actividad antifúngica del aceite esencial de orégano (*Origanum Vulgare*), mejorana (*Origanum Majorana*) y sinergia de dos aceites esenciales contra Candida albicans). Revista Internacional de estudios de investigación en Ciencia, ingeniería y tecnología. Marruecos.

Maraví, G. (2012) 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 Cándida albicans ATCC 90028. Trabajo final de graduación para optar por el título de cirujano dentista. Universidad Privada Norbert Wiener. Perú. Recuperado de: <http://www.cop.org.pe/bib/tesis/GISELLA%20GIOVANNA%20MARAVI%20INGA.pdf>

Mavor, A.; Thewes, S. y Hube, B. (2005) Systemic Fungal Infections Caused by Candida Species: Epidemiology, Infection Process and Virulence Attributes. Revista Current Drug target, 6 (8). Recuperado de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16375670>.

Mendoza, N. (2008). Farmacología Médica. Editorial Médica Panamericana. Mexico.

- Ministerio de salud y deporte. (2001) Normas para medicamentos naturales, tradicionales y homeopáticos. Bolivia. Recuperado de: <http://apps.who.int/medicinedocs/documents/s18840es/s18840es.pdf>
- Palhano, J; Oliveira, J; Figueredo, D; Pereira, J; Sarmiento, F y Oliveira, E. (2017) Antifungal activity of essential oils against *Candida albicans* strains isolated from users of dental prostheses. *Revista Evidence based complementary and alternative medicine*. Brasil.
- Patiño. (2000). *Química básica: prácticas de laboratorio*. Reverté. España.
- Penredo, H.A.; Palou-García, E.; López, A. (2009) Aceites esenciales: métodos de extracción. *Revista Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos* Vol: 3, pp 24-32
- Quintanilla, J. (2016) Efecto antibacteriano in vitro del carvacrol (aceite de orégano) sobre *Candida albicans*. *Revista de Investigación de la Universidad Norbert Wiener*, (5). Recuperado de: [http://intranet.uwiener.edu.pe/univwiener/portales/centroinvestigacion/documentacion/revista\\_5/3\\_EFECTO%20ANTIBACTERIANO%20IN%20VITRO%20DEL%20CARVACROL.pdf](http://intranet.uwiener.edu.pe/univwiener/portales/centroinvestigacion/documentacion/revista_5/3_EFECTO%20ANTIBACTERIANO%20IN%20VITRO%20DEL%20CARVACROL.pdf)
- Rivas, E. (2007) Composición y actividad antimicótica del aceite esencial de orégano (*Lippia graveolens* H.B.K) en *Candida spp.* In vitro. Trabajo final de graduación para optar por el título de ingeniero en agroecología. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. México. Recuperado de: <http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/42392/EMANUEL%20RIVAS%20ROBLES.pdf?sequence=1>
- Ryan, K y Ray, G. (Ed.6). (2017). Sherris. *Microbiología médica*. México: Mc Graw Hill
- Ryder, N; Wagner, S; Leitner, I. (1998). In Vitro Activities of Terbinafine against Cutaneous Isolates of *Candida albicans* and Other Pathogenic Yeasts. *Revista agentes antimicrobianos y quimioterapia*. Instituto de investigación de Novartis. Austria. Recuperado de: <http://aac.asm.org/content/42/5/1057.full.pdf>
- Sampieri, R.; Fernández, C. y Baptista, M. (Ed. 6). (2014). *Metodología de la investigación*. México: Mc Graw Hill

- Sánchez, G. y Rázuri, R. (2017) Obtención de aceite esencial a partir de orégano (*Origanum vulgare* L.) cultivado en la costa ecuatoriana y su evaluación como fitofármaco. Trabajo final de graduación para optar por el título de químicos farmacéuticos. Universidad de Guayaquil. Ecuador. Recuperado de: <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/23028/1/BCIEQ-T-0230%20S%c3%a1nchez%20Toala%20Grace%20Elizabeth%3b%20R%c3%a1zuri%20Vera%20Ronald%20Erwin.pdf>
- Skoog, D., Holler, J., Nieman, T. (2011). Principios de análisis instrumental. 5th Edición, Editorial Mcgraw Hill. pp 409-460.
- Thermo Nicolet Corporation. (2001). Verona, Italia
- Valverde, P. (2017) Efectividad antimicótica del aceite esencial de orégano de las provincias de chimborazo y santa elena al 100% de concentración sobre *Cándida albicans*. Trabajo final de graduación para obtener el título de odontóloga. Universidad Central de Ecuador. Ecuador. Recuperado de: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/9882/1/T-UCE-0015-619.pdf>
- Villavicencio, J.; Moromi, H.; Salcedo, D.; Pineda, M.; Ramos, D.; Zambrano, L.; Martínez, E.; Mendoza, G.; Petkova, M. y Bardales; R. (2016) Efecto Antimicótico in vitro de *Origanum vulgare* sobre cepas de *Cándida albicans*. Revista odontol- Sanmarquín. 19(2), 5-8. DOI: <http://dx.doi.org/10.15381/os.v19i2.12907>
- Wolff, K; Allen, R; Saavedra, A. (Ed.7). (2014) Atlas de dermatología clínica. México: Mc Graw Hill.