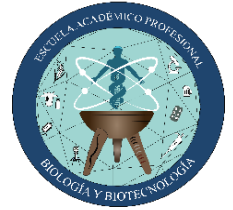




UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
E.A.P. DE BIOLOGÍA Y BIOTECNOLOGÍA



TESIS

“Efecto *in vitro* de los aceites esenciales de *Laurus nobilis* L. (laurel) y *Pelargonium graveolens* L. (geranio) sobre aislamientos clínicos de *Trichophyton rubrum*”

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL
DE BIÓLOGO BIOTECNÓLOGO

PRESENTADO POR:

Bach. Diana Elizabeth Escalante Villanueva

ASESORA:

Dra. Mblga. Claudia Carolina Rodríguez Ulloa

Cajamarca – Perú

2026

CONSTANCIA DE INFORME DE ORIGINALIDAD

1. Investigador: **Diana Elizabeth Escalante Villanueva**
DNI N.º **77084447**
Escuela Profesional/Unidad UNC: **ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA Y BIOTECNOLOGÍA**
2. Asesor:
Dra. Mblga. Claudia Carolina Rodríguez Ulloa
Facultad/Unidad UNC: **FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD**
3. Grado académico o título profesional
 Bachiller **Título profesional** Segunda especialidad
 Maestro Doctor
4. Tipo de Investigación:
 Tests Trabajo de investigación
 Trabajo de suficiencia profesional Trabajo académico
5. Título de Trabajo de Investigación:
Efecto in vitro de los aceites esenciales de *Laurus nobilis* L. (laurel) y *Pelargonium graveolens* L. (geranio) sobre aislamientos clínicos de *Trichophyton rubrum*
6. Fecha de evaluación: **13/02/2026**
7. Software antiplagio: **TURNITIN** **URKUND (ORIGINAL) (*)**
8. Porcentaje de Informe de Similitud: **19%**
9. Código Documento: **oid:::3117:556763243**
10. Resultado de la Evaluación de Similitud:
 APROBADO **PARA LEVANTAMIENTO DE OBSERVACIONES O DESAPROBADO**

Cajamarca, 18 de febrero del 2026



En caso se realizó la evaluación hasta noviembre de 2024*

Copyright©

Diana Elizabeth Escalante Villanueva

Todos los derechos reservados

FICHA CATALOGRÁFICA

Escalante D. 2025. “Efecto *in vitro* de los aceites esenciales de *Laurus nobilis* L. (laurel) y *Pelargonium graveolens* L. (geranio) sobre aislamientos clínicos de *Trichophyton rubrum*” / Diana Elizabeth Escalante Villanueva

Escuela Académico Profesional de Biología y Biotecnología

Asesora: Dra. Mblga. Claudia Carolina Rodríguez Ulloa

Disertación Académica para optar el Título Profesional de Biólogo Biotecnólogo UNC –
2025

“Efecto *in vitro* de los aceites esenciales de *Laurus nobilis* L. (laurel) y *Pelargonium graveolens* L. (geranio) sobre aislamientos clínicos de *Trichophyton rubrum*”

AUTOR: Bach. Diana Elizabeth Escalante Villanueva

ASESOR: Dra. Mblga. Claudia Carolina Rodríguez Ulloa

Tesis evaluada y aprobada para la obtención del Título Profesional de Biólogo Biotecnólogo de la Universidad Nacional de Cajamarca, por los siguientes jurados.

JURADO EVALUADOR



PRESIDENTE

Dr. Rodolfo Raúl Orejuela Chirinos



SECRETARIO

Dr. Luis Gilberto García Izquierdo



VOCAL

M.Cs. Arturo Ulises Díaz Aliaga



MODALIDAD "A"

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS PARA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO PROFESIONAL DE BIÓLOGO BIOTECNÓLOGO

En Cajamarca, siendo las 8:30 am del 04 de febrero del 2026, los integrantes del Jurado Evaluador para la revisión y sustentación de la tesis, designados en Consejo de Facultad a propuesta del Departamento Académico, reunidos en el ambiente 1I-304 de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Nacional de Cajamarca, dan inicio a la sustentación de tesis denominada:

"Efecto in vitro de los aceites esenciales de Laurus nobilis L. (lauriel) y Pelargonium graveolens L. (geranio) sobre aislamientos clínicos de Trichophyton rubrum"

del (a) Bachiller en Ciencias Biológicas:

Diana Elizabeth Escalante Villanueva

Siendo las 9:33 am del mismo día, se da por finalizado el proceso de evaluación, el Jurado Evaluador da su veredicto en los siguientes términos: muy bueno, con el calificativo de 18, con lo cual el (la) Bachiller en Ciencias Biológicas se encuentra apta para la obtención del Título Profesional de: BIÓLOGO BIOTECNÓLOGO.

Table with 2 columns: Miembros Jurado Evaluador (Nombres y Apellidos) and Firma. Rows include Presidente (Rodolfo Raúl Orejuela Chirinos), Secretario(a) (Luis Gilberto García Izquierdo), Vocal (Arturo Ulises Díaz Aliaga), Accesitaria, Asesor (a) (Claudia Carolina Rodríguez Ulloa), and Asesor (a).

Términos de Calificación:

EXCELENTE (19-20)

MUY BUENO (17-18)

BUENO (14-16)

REGULAR (12-13)

REGULAR BAJO (11)

DESAPROBADO (10 a menos)

A:

Mis amados padres, Edwin Escalante Marín y María Villanueva Manosalva, con profunda gratitud y amor eterno, dedico este logro a ustedes, que han sido la base firme sobre la cual he construido cada paso de mi vida. Gracias por darme la vida, pero sobre todo por enseñarme a vivirla con principios, esfuerzo, humildad y fe. Este trabajo, más que una tesis, representa años de esfuerzo, sacrificios compartidos y sueños construidos en familia. Cada página lleva impreso su amor, su entrega y su confianza incondicional.

Agradecimientos

En primer lugar, agradezco profundamente a Dios, por ser mi guía y mi refugio en cada etapa de esta travesía. Por darme la fuerza cuando flaqueé, la luz cuando hubo oscuridad y la paz cuando sentí incertidumbre. Sin Su presencia en mi vida, este logro no hubiera sido posible.

A mi pequeño hermano Frank, gracias por llenar mis días de alegría con tu inocencia y ternura. Aunque eres aún un niño, tu sonrisa, tus abrazos y tu forma tan especial de demostrar cariño fueron mi mayor consuelo en los momentos difíciles.

A mi tía Gladys, por su cariño inagotable, por creer en mí desde el principio y por brindarme su apoyo en los momentos en que más lo necesitaba. Tu presencia ha sido un bálsamo en medio de las dificultades y tu ayuda ha tenido un valor incalculable para mí.

A mi asesora, la Dra. Mblga. Claudia Carolina Rodríguez Ulloa, le expreso mi más sincero agradecimiento por su compromiso, orientación y paciencia durante el desarrollo de este trabajo. Gracias por compartir conmigo su experiencia, su tiempo y sus valiosas sugerencias.

Y finalmente, a todas las personas que de una u otra manera estuvieron presentes durante el proceso de esta tesis, gracias por sus gestos, su tiempo, sus palabras y su energía.

CONTENIDO

CAPÍTULO I	1
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO II	4
2.1 Marco teórico	4
2.1.1 Antecedentes de la Investigación	4
2.2 Bases Teóricas	9
2.2.1. Fitoterapia	9
2.2.2. <i>Laurus nobilis</i> L (laurel)	10
2.2.2.1 Taxonomía.....	10
2.2.2.2 Historia	10
2.2.2.3 Nombres comunes	11
2.2.2.4 Descripción botánica	11
2.2.2.5 Usos	12
2.2.2.6 Composición química	12
2.2.2.7 Composición fitoquímica	13
2.2.3 <i>Pelargonium graveolens</i> L. (geranio)	13
2.2.3.1 Taxonomía	14
2.2.3.2 Historia	14
2.2.3.3 Nombres Comunes	14

2.2.3.4 Descripción botánica.....	15
2.2.3.5 Usos.....	15
2.2.3.6 Principios activos.....	16
2.2.4 Aceites esenciales.....	17
2.2.4.1 Grupos funcionales de los aceites esenciales.....	18
2.2.4.2 Métodos de obtención de aceites esenciales.....	19
2.2.5 Micosis.....	20
2.2.6 Dermatofitosis.....	21
2.2.7 Género <i>Trichophyton</i>	21
2.2.7.1.1 Características.....	22
2.2.7.1.2 Cuadro clínico.....	23
2.2.7.1.3 Cultivo.....	23
2.2.7.1.4 Diagnóstico.....	24
2.2.7.1.5 Tratamiento.....	25
CAPÍTULO III.....	27
DISEÑO DE CONTRASTACIÓN DE HIPÓTESIS.....	27
3.1 Nivel de Investigación.....	27
3.2 Tipo y Diseño de investigación.....	27
3.3 Diseño metodológico.....	27
3.3.1 Material Biológico.....	27

3.3.2 Reactivación de la cepa <i>Trichophyton rubrum</i> ATCC™ 28188™	27
3.3.3 Autorización y transporte de los aislamientos	28
3.3.4 Reactivación y evaluación de la pureza de los aislamientos	28
3.3.5 Obtención de aceites esenciales a partir de hojas de <i>Laurus nobilis</i> (laurel) y flores de <i>Pelargonium graveolens</i> (geranio)	29
3.3.5.1 Recolección del material botánico	29
3.3.5.2 Selección y acondicionamiento del material vegetal	29
3.3.5.3 Obtención de los aceites esenciales	30
Aceite esencial de <i>Laurus nobilis</i> (laurel):	30
Aceite esencial de <i>Pelargonium graveolens</i> (geranio):	31
3.3.6 Determinación de la actividad antimicótica	31
3.3.6.1 Evaluación del efecto antifúngico mediante el método de dilución en agar ..	31
3.3.6.2 Preparación del medio de cultivo	32
3.3.7 Siembra de <i>Trichophyton rubrum</i>	32
3.3.8 Técnicas e Instrumentos de recolección de datos	33
3.3.9 Técnicas de procesamiento y análisis de datos	33
CAPÍTULO IV	34
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	34
4.1 Resultados	34
4.1.1 Reactivación de la cepa <i>Trichophyton rubrum</i> ATCC™ 28188™	34

4.1.2 Reactivación y evaluación de la pureza de los aislamientos clínicos.....	35
4.1.3. Evaluación del efecto antifúngico.....	35
4.1.3.1. Aceite esencial de Laurel (<i>Laurus nobilis</i>).....	36
4.1.3.2. Aceite esencial de <i>Pelargonium graveolens</i> (geranio)	38
4.2 Discusión.....	40
CAPITULO V	46
5.1 Conclusiones.....	46
5.2 Recomendaciones.....	46
VI. Referencias Bibliográficas	48
VII. Apéndices.....	60
VIII. Anexos.....	78

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Morfología microscópica y de cultivo de <i>T. rubrum</i>	24
Figura 2. Morfología de las colonias de la cepa <i>Trichophyton rubrum</i> ATCC™ 28188™	34
Figura 3. Crecimiento de aislados clínicos de <i>T. rubrum</i> en placas de Saburoud.	35
Figura 4. Efecto del aceite esencial de <i>Laurus nobilis</i> a diferentes concentraciones sobre la cepa <i>T. rubrum</i> ATCC 28188.	36
Figura 5. Efecto inhibitorio del aceite esencial de <i>Laurus nobilis</i> (laurel) a diferentes concentraciones sobre el aislamiento clínico 001 de <i>T. rubrum</i>	38
Figura 6. Efecto inhibitorio del aceite esencial de <i>Pelargonium graveolens</i> (geranio) a diferentes concentraciones sobre el aislamiento clínico 002 de <i>T. rubrum</i>	39

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Inhibición del crecimiento de <i>T. rubrum</i> frente a diferentes concentraciones del aceite esencial de <i>Laurus nobilis</i> (laurel) y fluconazol.	37
Tabla 2. Inhibición del crecimiento de <i>T. rubrum</i> frente a diferentes concentraciones del aceite esencial de <i>Pelargonium graveolens</i> (geranio) y fluconazol.	39

LISTA DE ABREVIATURAS

AE: Aceite esencial

AD: Agua destilada

ATCC: American Type Culture Collection

CMIA: Concentración mínima inhibitoria antifúngica

FDA: Food and Drug Administration

FLUC: Fluconazol

GLOSARIO

Aceite esencial: Líquido que puede ser aromático, de aspecto fluido o espeso y de color variable, cuya composición depende de la planta de origen. Son segregadas por células especiales que se encuentran en diferentes partes de la planta, como hojas, flores, madera, raíces y semillas (1).

Concentración mínima inhibitoria antifúngica (CMIA): Es la menor concentración de un antifúngico capaz de inhibir el crecimiento de hongos (2).

Dermatofitosis: Infecciones micóticas causadas por hongos filamentosos denominados dermatofitos, cuya presentación clínica se conoce comúnmente como tiña (3).

Fluconazol: Antifúngico con efecto fungistático cuyo mecanismo de acción consiste en reducir la síntesis del ergosterol, esencial para la integridad de la membrana citoplasmática de los hongos. Presenta acción contra *Candida albicans* y otras especies de *Candida* excepto *C. krusei*, *C. norvengensis*, *C. ciferri* y *C. inconspicua*. También, es eficaz contra dermatofitos (4).

“Efecto *in vitro* de los aceites esenciales de *Laurus nobilis* L. (laurel) y *Pelargonium graveolens* L. (geranio) sobre aislamientos clínicos de *Trichophyton rubrum*”

RESUMEN

Las infecciones ocasionadas por *Trichophyton rubrum* se caracteriza por su persistencia y tendencia a la cronicidad cuando no son tratadas de manera adecuada. A ello se suma que los tratamientos antifúngicos convencionales presentan limitaciones importantes, ya sea por su eficacia reducida, la aparición de cepas resistentes o los efectos adversos asociados a su uso prolongado. En este contexto, la presente investigación tuvo como objetivo evaluar el efecto in vitro de los aceites esenciales de *Laurus nobilis* L. (laurel) y *Pelargonium graveolens* L. (geranio) sobre el crecimiento de aislamientos clínicos de *T. rubrum*. Los aceites fueron obtenidos mediante el método de destilación por arrastre de vapor, lo que permitió preservar sus compuestos bioactivos. Posteriormente, su actividad antifúngica se evaluó frente a cinco aislamientos clínicos y una cepa de referencia (*T. rubrum* ATCC® 28188™) utilizando la técnica de dilución en agar. Los resultados demostraron que ambos aceites esenciales, en concentraciones de 2 %, 1 % y 0,5 %, ejercieron un efecto inhibitorio significativo sobre el crecimiento de los aislamientos clínicos. Este hallazgo confirma que los metabolitos presentes en *L. nobilis* y *P. graveolens* poseen acción antifúngica efectiva frente a dermatofitos, incluso a bajas concentraciones. En conclusión, los aceites esenciales de *L. nobilis* L. y *P. graveolens* L. presentan un efecto inhibitorio in vitro sobre el crecimiento de *T. rubrum* en todas las concentraciones evaluadas.

Palabras clave: Aceite esencial, *Trichophyton rubrum*, *Laurus nobilis* L., *Pelargonium graveolens* L., efecto antifúngico.

ABSTRACT

Infections caused by *Trichophyton rubrum* are characterized by their persistence and tendency to become chronic if not treated appropriately. Furthermore, conventional antifungal treatments have significant limitations, due to reduced efficacy, the emergence of resistant strains, or adverse effects associated with prolonged use. In this context, this study aimed to evaluate the in vitro effect of the essential oils of *Laurus nobilis* L. (bay) and *Pelargonium graveolens* L. (geranium) on the growth of clinical isolates of *T. rubrum*. The oils were obtained using steam distillation, preserving their bioactive compounds. Their antifungal activity was then evaluated against five clinical isolates and a reference strain (*T. rubrum* ATCC® 28188™) using the agar dilution technique. The results demonstrated that both essential oils, at concentrations of 2%, 1%, and 0.5%, exerted a significant inhibitory effect on the growth of clinical isolates. This finding confirms that the metabolites present in *L. nobilis* and *P. graveolens* possess effective antifungal action against dermatophytes, even at low concentrations. In conclusion, the essential oils of *L. nobilis* L. and *P. graveolens* L. exhibit an in vitro inhibitory effect on the growth of *T. rubrum* at all concentrations tested.

Keywords: Essential oil, *Trichophyton rubrum*, *Laurus nobilis* L., *Pelargonium graveolens* L., antifungal effect.

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

Desde tiempos ancestrales, las plantas medicinales han sido empleadas con fines terapéuticos por diversas culturas. A lo largo de los años, la humanidad ha acumulado un valioso conocimiento tradicional sobre sus propiedades curativas, utilizándolas tanto para la prevención como para el tratamiento de múltiples enfermedades. Sin embargo, aún existen numerosas especies vegetales que no han sido suficientemente investigadas, y podrían representar nuevas alternativas terapéuticas frente a distintas patologías (5).

El creciente interés científico en estas plantas se debe a que muchas de ellas presentan una eficacia farmacológica significativa, con menores efectos secundarios y costos más accesibles en comparación con los fármacos convencionales. Entre sus compuestos bioactivos destacan los aceites esenciales, reconocidos por sus propiedades antimicrobianas y utilizados tradicionalmente para combatir microorganismos patógenos responsables de diversas infecciones en humanos (6,7).

En el Perú, uno de los problemas de salud más frecuentes lo constituyen las infecciones causadas por hongos dermatofitos, que afectan principalmente la piel, los pies y las uñas, generando afecciones como el pie de atleta, la tiña y la onicomicosis. Entre los agentes etiológicos más comunes se encuentran *Trichophyton rubrum* y *Trichophyton mentagrophytes*, siendo *T. rubrum* uno de los principales causantes de infecciones micóticas en la piel y las uñas (8).

Las infecciones ocasionadas por *T. rubrum* pueden llegar a ser persistentes si no se tratan de forma adecuada, afectando negativamente en la calidad de vida del paciente, tanto en el aspecto físico, psicológico y social. Además, el uso prolongado de tratamientos antifúngicos convencionales ha favorecido la aparición de cepas resistentes, y el incremento de los costos de los medicamentos, lo que refuerza la necesidad de investigar nuevas opciones terapéuticas más accesibles y eficaces, como los productos de origen vegetal con potencial antifúngico (9).

El Perú se distingue por su gran biodiversidad vegetal, siendo fuente de una gran variedad de hierbas y plantas medicinales con alto contenido de fitoquímicos, como flavonoides, terpenoides y otros metabolitos secundarios con reconocido potencial terapéutico. No obstante, muchas de estas especies aún no han sido estudiadas en profundidad, y la evidencia científica que respalde su aplicación clínica continua siendo limitada (10).

En el departamento de Cajamarca, especies como *L. nobilis* (laurel) y *P. graveolens* (geranio) están ampliamente distribuidas y son comúnmente utilizadas con fines medicinales, debido a sus conocidas propiedades antimicrobianas. Estas plantas contienen diversos compuestos activos, entre ellos los terpenoides, que han demostrado actividad antibacteriana y antifúngica (11).

Por ello, la evaluación del efecto antimicótico de los aceites esenciales de *L. nobilis* y *P. graveolens* frente a aislamientos clínicos de *T. rubrum* permitirá generar información valiosa para futuras investigaciones y contribuir al desarrollo de nuevas formulaciones terapéuticas. Estas podrían representar una alternativa eficaz frente a cepas resistentes, mejorando el abordaje clínico de las infecciones micóticas provocadas por este hongo.

En este contexto, la presente investigación se plantea determinar el efecto in vitro de los aceites esenciales de *L. nobilis* L. (laurel) y *P. graveolens* L. (geranio) sobre el crecimiento de aislamientos clínicos de *T. rubrum*.

CAPÍTULO II

2.1 Marco teórico

2.1.1 Antecedentes de la Investigación

En 2018, un estudio realizado en Polonia evaluó la actividad de los aceites esenciales de *Thymus vulgaris*, *Citrus limonum*, *P. graveolens*, *Cinnamomum cassia*, *Ocimum basilicum* y *Eugenia caryophyllus* contra 183 aislados clínicos de *Candida albicans* y 76 aislamientos de *C. glabrata*. Se demostró que todos los aceites presentaban actividad fungistática y fungicida frente a *C. albicans* y *C. glabrata*. Los valores de concentración mínima inhibitoria de los aceites variaron entre 0,005 % (o menos) y 2,5 % (v/v). En la mayoría de los casos, los valores de concentración fungicida mínima, fueron iguales o el doble que los de la CMI. Se concluyó que todos los aceites probados mostraron la capacidad de inhibir la transición de la levadura a la forma de micelio (13).

En 2019, se evaluaron los efectos antidermatofitos de nueve aceites esenciales de diferentes variedades de *P. graveolens* sobre diversas cepas de dermatofitos, incluyendo *Trichophyton rubrum* PTCC 6 5143. Se emplearon métodos como el porcentaje de inhibición del crecimiento del micelio y ensayos de dilución en microcaldo. *T. rubrum* mostró el mayor porcentaje de inhibición de micelio, con valores que oscilaron entre 22,5 % y 53,3 %. En el ensayo de dilución en microcaldo, se observó que la cepa E22 (proveniente de Irán) presentó valores de CMI y CFM más elevados en comparación con los demás aceites esenciales, demostrando así su mayor eficacia contra los dermatofitos evaluados. Se concluyó que *P.*

graveolens contiene componentes como geraniol (30 35%) y citronelol (21%), esenciales para la formulación de productos antidermatofitos (14).

En 2021, en Irán, se llevó a cabo un estudio con el objetivo de aislar hongos de colchonetas deportivas mediante el método de alfombra estéril (4x4) y analizar la actividad antifúngica del aceite esencial de orégano por dilución-neutralización. Se aislaron hongos en 23 muestras, de las cuales 56,6 % correspondieron a dermatofitos, como *T. tonsurans*, y un 43,4 % a no dermatofitos, como *Aspergillus niger*. Se demostró que el aceite esencial de orégano no mostró un efecto significativo sobre los dermatofitos, pero sí presentó actividad antifúngica frente a no dermatofitos (65%) (15).

En Suiza, en 2022, se evaluaron las propiedades antioxidantes, antidiabéticas, antiinflamatorias, antibacterianas y antifúngicas de los aceites esenciales (AE) de *Arbutus unedo* L. y *L. nobilis* L. a una concentración del 100%. El análisis se realizó sobre dos cepas de hongos, incluyendo *T. rubrum* (aislado clínico), utilizando los métodos de difusión en disco y determinación de CMI. Los resultados mostraron que el AE de laurel inhibió el crecimiento de todas las cepas analizadas, superando la efectividad de nistatina (16). A diferencia de dicho estudio, la presente investigación se evaluará el aceite esencial de laurel en diferentes concentraciones (0.5%, 1% y 2%), lo que permitirá un análisis más detallado de su eficacia en función de la concentración.

En junio de 2022, en Marruecos, se evaluó la composición química y la actividad antimicrobiana de los aceites esenciales de *Thymus leptobotrys*, *Laurus nobilis*, y *Syzygium aromaticum*. Se identificó que el componente 1,8-cineol (31.48%) fue predominante en el aceite esencial de *L. nobilis*. La actividad antimicrobiana se evaluó frente a 18 cepas microbianas patógenas para humanos (13 cepas bacterianas y 5 levaduras), utilizando el método de difusión en disco y midiendo la concentración mínima inhibitoria y la concentración mínima microbicida. En la mayoría de los casos, los aceites esenciales mostraron actividades antibacteriana y antifúngica superior a la de ciprofloxacino y fluconazol. Se concluyó que estos aceites esenciales representan alternativas prometedoras para reemplazar a los antimicrobianos sintéticos (17).

En Italia, en el 2023, se evaluó la actividad antimicótica de once aceites esenciales, entre ellos el de geranio, en comparación con anfotericina B e itraconazol, frente a diferentes aislados clínicos de *Aspergillus* (*Aspergillus flavus*, *A. fumigatus* y *A. niger*). Se determinó la actividad antimicótica mediante el método de microdilución en caldo, la técnica de difusión en agar, pruebas de actividad fungistática y fungicida y el ensayo de contacto por vapor. Los resultados mostraron que los monoterpenos predominaron en la composición química de la mayoría de los aceites. Se identificaron dos compuestos aromáticos (eugenol 78,91% y acetato de eugenilo 11,64%) como componentes principales del aceite esencial del clavo. Además, se determinó que los AE de clavo y geranio resultaron altamente eficaces en la inhibición del crecimiento de *Aspergillus* spp (18).

En el año 2018, en Lima, se determinó la actividad antimicótica del extracto etanólico de *L. nobilis* (laurel) en cepas de *C. albicans*. Se utilizó el método de disco difusión en agar y se evaluó el extracto etanólico de las hojas secas de *L. nobilis* (laurel) a diferentes concentraciones: 100 %, 85 % y 25 %. Se utilizó fluconazol como control positivo y alcohol etanólico al 96 % como control negativo. Se determinó que el extracto etanólico al 100 % y al 50 % resultó sensible y al 25 % fue nulo. Se concluyó que el extracto de *L. nobilis* (laurel) presenta efecto in vitro antimicótico frente a cepas de *C. albicans* (19).

En España, en el año 2018, se llevó a cabo un estudio en el que se evaluó la efectividad in vivo e in vitro del aceite y extractos de *P. graveolens* (geranio) en el control de hongos fitopatógenos. Los resultados evidenciaron que el aceite esencial de geranio fue altamente eficaz frente a *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* y *Phytophthora nicotianae* var. *parasitica* (*Phytophthora parasitica*), logrando reducir la expresión de la enfermedad en un 75 % y 60 %, respectivamente. Estas conclusiones demuestran que el aceite de geranio posee un marcado efecto inhibitorio frente a diferentes especies fúngicas (20). Si bien dicho estudio estuvo enfocado en hongos fitopatógenos, la relevancia para el presente trabajo radica en que confirma la actividad antifúngica de este aceite esencial, como en hongos de importancia clínica en salud humana.

En 2018, en Irán, se desarrolló un estudio en el que se evaluaron las actividades anti-*Candida* de seis muestras de aceites esenciales de *P. graveolens* frente a 31 aislamientos clínicos de

C. albicans. Para ello, se aplicaron dos metodologías: la prueba de difusión en disco y los ensayos de dilución en microcaldo. Los resultados demostraron que las muestras de aceite esencial de *P. graveolens*, caracterizadas por un contenido variable de citronelol (7,7–43,7 %) y geraniol (19,3–48,5 %), presentaron actividad anti-*Candida* consistente en ambos métodos de evaluación. En conclusión, los autores sugieren que los aceites esenciales de *P. graveolens* pueden ser considerados como agentes prometedores en el desarrollo de terapias alternativas contra *C. albicans*, recomendando su validación en estudios posteriores (21).

En 2024, en la región de Cajamarca, se llevó a cabo un estudio para evaluar el efecto *in vitro* del extracto alcohólico y del aceite esencial de *Hyptis eriocephala* Benth. sobre el crecimiento de aislamientos clínicos de *T. rubrum*. Las cepas fueron obtenidas de muestras de pacientes con onicomicosis, recolectadas en los laboratorios de microbiología de la red asistencial de Cajamarca. Los resultados mostraron que el aceite esencial de *H. eriocephala*, a concentraciones de 2%, 1% y 0,5%, presentó un efecto inhibitorio sobre el crecimiento de las cepas clínicas de *T. rubrum*. En cambio, el extracto alcohólico de la misma especie no mostró actividad antifúngica en las concentraciones evaluadas. Se concluyó que el aceite esencial de *H. eriocephala* posee un efecto inhibitorio *in vitro* frente *Trichophyton rubrum* en todas las concentraciones probadas (22). Estos hallazgos refuerzan el potencial terapéutico de los aceites esenciales de origen vegetal como agentes eficaces contra especies micóticas patógenas..

2.2 Bases Teóricas

2.2.1. Fitoterapia

La fitoterapia consiste en el tratamiento de enfermedades mediante el empleo de vegetales o sus derivados. Este concepto abarca la utilización de fitofármacos, los cuales se emplean con fines preventivos, paliativos o curativos. Dichos fitofármacos corresponden a extractos vegetales previamente estandarizados, aptos para el consumo humano y con calidad controlada. La investigación en este campo busca ampliar el conocimiento sobre la flora con propiedades medicinales, con el propósito de identificar su potencial terapéutico y desarrollar fitofármacos con dosis adecuadas que puedan ser indicados por el profesional de salud en diversas patologías (23).

Las plantas medicinales han demostrado ser de gran utilidad en tratamientos médicos. La Organización Mundial de la Salud (OMS), en 1975, promovió el uso de la medicina tradicional como alternativa complementaria. Se pretende que conforme pasen los años, los fitofármacos sean empleados con mayor frecuencia, reduciendo progresivamente los medicamentos de síntesis química. Sin embargo, la OMS indica que es necesario establecer la eficacia de estos productos, así como determinar la dosis adecuada, posibles efectos secundarios, interacciones, contraindicaciones, que puedan garantizar la seguridad y calidad del producto fitoterapéutico (24).

Entre los principales beneficios de los fitofármacos destacan: obtención de fitoconstituyentes de forma más económica, presencia de distintos principios activos que puedan mejorar resultados terapéuticos debido a una acción combinada, asimismo se puede encontrar varios principios activos en una planta que pueden tratar más de una patología a la vez produciendo diversidad de efectos, hay pocas posibilidades de encontrar efectos secundarios, ausencia de

desechos tóxicos, ya que los residuos que se puedan producir al momento de elaborar un fitofármaco podrían ser utilizados como abonos naturales (25).

2.2.2. *Laurus nobilis* L (laurel)

2.2.2.1 Taxonomía (19)

- **Dominio:** Eukarya
- **Reino:** Plantae
- **División:** Magnoliophyta
- **Clase:** Magnoliopsida
- **Subclase:** Magnoliidae
- **Orden:** Laurales
- **Familia:** Lauraceae
- **Género:** *Laurus*
- **Especie:** *Laurus nobilis* L

2.2.2.2 Historia

El laurel es originario de la región del mar Mediterráneo y el Asia Menor, desde donde se extendió al resto de América y Europa, como Francia y España. es una planta de gran importancia industrial, utilizada en las industrias alimentaria, farmacéutica y cosmética (26).

2.2.2.3 Nombres comunes

Aurelar, laurel, Árbol de Apolo, aurelero, auré, aurero, choriu, laureado, laurel común, laurel de Dafne, laurel de Apolo, laurel del Mediterráneo, laurel macho, laurel hembra, entre otras (27).

2.2.2.4 Descripción botánica

Arbusto dioico que puede alcanzar entre 5 y 10 m de altura. Presenta una copa generalmente densa y oscura, algo irregular, con varios troncos de corteza lisa, de tonalidad verdosa o grisácea, y ramas relativamente erguidas. Sus hojas son alternas, de forma lanceolada, con dimensiones aproximadas de 6 a 13 cm de largo por 1,5 a 4,5 cm de ancho; poseen base atenuada o cuneada, margen ligeramente ondulado en ocasiones y ápice agudo o acuminado. Tienen una textura algo coriácea, desprenden aroma al ser estrujadas y muestran un color verde oscuro en el haz y más claro en el envés, con un nervio central visible en ambas caras y entre 10 y 12 pares de nervaduras laterales. Las flores aparecen agrupadas en umbelas sésiles de 4 a 6 unidades, de tonalidad amarillenta, observándose principalmente entre marzo y mayo. El fruto es una baya carnosa, de forma elipsoide u ovoide, similar a una aceituna, que mide aproximadamente de 1 a 1,5 cm y adquiere un color negro al madurar. Esta especie suele crecer en zonas rocosas y bosques mediterráneos, aunque actualmente se cultiva en diversas regiones del mundo (27).

2.2.2.5 Usos

El laurel ha sido reconocido desde hace mucho tiempo como una planta con propiedades medicinales y diversos efectos beneficiosos para la salud. Se emplea comúnmente en forma de infusión para aliviar distintos problemas, como la sinusitis, ya que los aceites esenciales que contiene contribuyen a la descongestión nasal. En relación con los trastornos digestivos, puede añadirse un par de hojas a las comidas o incluso masticarlas en ayunas. Además, el laurel se utiliza por su acción antiséptica; por ejemplo, en casos de infecciones por hongos vaginales puede emplearse en infusión para realizar lavados íntimos. Entre otras propiedades atribuidas a esta planta destacan sus efectos antisépticos, aperitivos, eupépticos, antirreumáticos y antiinflamatorios (19).

2.2.2.6 Composición química

Las hojas de laurel contienen principalmente 1,8-cineol, en proporciones aproximadas de 30-60 %. El aceite esencial se localiza tanto en las hojas como en el tronco e incluso en el fruto. Respecto a la calidad de estas hojas, es importante considerar que su contenido de aceite esencial está influido por el nivel de insolación que recibe la planta. Los frutos también presentan aceite esencial y cerca de un 15 % de lípidos, a partir de los cuales se obtiene el aceite o “manteca” de laurel, de tonalidad verde, constituida sobre todo por triglicéridos de ácidos grasos, principalmente monoinsaturados y diinsaturados, además de algunos saturados como los ácidos láurico, palmítico, oleico y linoleico. Asimismo, contienen compuestos responsables de la coloración del fruto, entre ellos 3-O-glucósidos, antocianósidos y 3-O-rutinosidos de cianidina y peonidina (28).

2.2.2.7 Composición fitoquímica

Diversos estudios fitoquímicos han evidenciado que *L. nobilis* contiene metabolitos secundarios, principalmente terpenoides y compuestos fenólicos. Estas sustancias han demostrado actividad antifúngica y antimicrobiana, atribuida a su capacidad de actuar sobre distintos blancos químicos de los microorganismos, suprimiendo diversos factores relacionados con su desarrollo. Se ha señalado que los compuestos fenólicos pueden ejercer múltiples mecanismos de acción, como la inhibición de la síntesis de ácidos nucleicos tanto en bacterias grampositivas como gramnegativas, la alteración de la producción energética, la inhibición de la formación de biopelículas o biofilms, la reducción de la adherencia a las células del huésped y la neutralización de toxinas bacterianas. Asimismo, estos compuestos pueden provocar modificaciones en la membrana celular, aumentando su fluidez y permeabilidad, además de interferir en la respiración bacteriana y en los procesos de transporte iónico en bacterias grampositivas y gramnegativas. Entre los principales principios activos identificados se encuentran terpineol, eugenol, pineno, boldina, cineol, sabineno, metileugenol, reticulina y launobina, entre otros (29).

2.2.3 *Pelargonium graveolens* L. (geranio)

El término *Pelargonium* deriva del vocablo griego pelargos, que significa “cigüeña”, denominación relacionada con la forma característica de su fruto. Asimismo, se trata de una planta ampliamente reconocida y con notable popularidad en los cultivos que se desarrollan a nivel mundial (30).

2.2.3.1 Taxonomía (31)

- **Dominio:** Eukarya
- **Reino:** Plantae
- **Filo:** Magnoliophyta
- **Clase:** Magnoliopsida
- **Orden:** Geraniales
- **Familia:** Geraniaceae
- **Género:** *Pelargonium*
- **Especie:** *Pelargonium graveolens*

2.2.3.2 Historia

Es una especie originaria del sur de África, especialmente de las Islas Comoras, aunque en la actualidad su cultivo se ha extendido ampliamente a países como Rusia, Egipto, Argelia, Marruecos, Congo, Japón, así como a regiones de América Central y de Europa, incluyendo España, Italia y Francia. Entre los principales productores de su aceite esencial, destacan Reunión, Egipto y Rusia (30).

2.2.3.3 Nombres Comunes

Pelargonium graveolens es conocida comúnmente por una variedad de nombres que hacen referencia a sus características, aroma floral y su apariencia. Entre ellos destacan: pelargonium rosa perfumado, geranio rosa, rosa geranio de olor y malva silvestre. Estos nombres populares reflejan su uso extendido tanto en la medicina tradicional como en la

industria cosmética y perfumera, donde es apreciada por el intenso y agradable aroma a rosa que emana de sus hojas y flores (32).

2.2.3.4 Descripción botánica

Se trata de arbustos que pueden alcanzar entre 1 y 1,20 metros de altura, con porte erguido y abundante ramificación. Sus hojas presentan el haz de color verde oscuro y el envés en un tono más claro; son pecioladas, alternas y generalmente lobuladas. Las flores se agrupan en falsas umbelas y pueden presentar tonalidades blancas, rosadas o violáceas, siendo de tamaño pequeño. En cuanto a los frutos, estos poseen una envoltura que contiene semillas muy pequeñas (30) .

2.2.3.5 Usos

Las plantas de geranio pueden emplearse con diversos fines y aplicaciones, por ejemplo, en forma de decocciones, infusiones o extractos fluidos elaborados a partir de distintas partes de la planta, especialmente las hojas. Estos preparados se han utilizado tradicionalmente para ayudar en afecciones como gastroenteritis, hemorragias, amigdalitis y diabetes, debido a sus propiedades antisépticas, tónicas y astringentes. Incluso las raíces también presentan un efecto astringente que contribuye a sus usos terapéuticos (30).

2.2.3.6 Principios activos

Geraniol

Se trata de un alcohol de tipo terpenoide que presenta propiedades antiinflamatorias y capacidad para modificar la fluidez de la membrana celular tanto en hongos como en bacterias. La acción antifúngica se atribuye principalmente a los terpenos, ya que estos pueden atravesar la pared celular del hongo y actuar sobre las cadenas de ácidos grasos de la bicapa lipídica. Este proceso altera la organización de los lípidos y, en consecuencia, la estructura de la membrana celular, lo que ocasiona la pérdida de material citoplasmático e interfiere en la cadena respiratoria del microorganismo (33).

Citronelol

Se ha evidenciado que el citronelol presenta una actividad importante frente a *Pseudomonas* spp. y *Escherichia coli*; además, también se ha observado un efecto inhibitor sobre el crecimiento de *C. albicans*. Aunque su mecanismo de acción aún no se conoce con precisión, se considera que podría ser semejante al descrito para el geraniol (33).

Linalol

Componente perteneciente al grupo funcional de alcoholes terpenos. Se considera que podría tener efectos anticonvulsivos y que, además, posee la capacidad de favorecer la inducción del sueño (34).

Terpenol

Alcohol monoterpénicos más ampliamente distribuidos en la naturaleza, presente en diversas flores como las fresas o los narcisos, así como en hierbas aromáticas tales como el romero y el orégano (35).

Taninos

Compuestos sintetizados por ciertas plantas que se caracterizan por su sabor astringente; esta propiedad se asocia con sus efectos antidiarreicos y antiinflamatorios (36).

Flavonoides

Son pigmentos naturales responsables de aportar coloración a las plantas. Estos flavonoides también presentan diversos efectos beneficiosos en los seres humanos, ya que se les atribuyen propiedades antioxidantes, antivirales, anticancerígenas y antiinflamatorias (36,37).

Principio amargo (geranina)

La podemos encontrar en la raíz del geranio, y presenta actividades astringentes(37).

2.2.4 Aceites esenciales

Los aceites esenciales son sustancias volátiles de compuestos orgánicos que se obtienen a partir de plantas aromáticas y por distintos métodos físicos (38). . En el siglo XVI, se introdujo el término aceite esencial por Paracelso quien fue un médico y paramédico que

además consideró al aceite esencial como la quinta esencia, la cual propuso Aristóteles 2000 años antes (39). Entre los siglos XVI y XVII, los aceites esenciales comenzaron a prepararse en farmacias para distintos usos terapéuticos. Sin embargo, con la aparición de las vacunas y los antibióticos su empleo disminuyó considerablemente. Posteriormente, hacia el siglo XIX, se observó nuevamente un aumento en la demanda de estos productos (39).

El término “esencial” puede interpretarse de dos maneras según el contexto. Cuando se aplica a los ácidos grasos, hace referencia a algo “necesario”, como ocurre con el ácido linoleico, considerado indispensable para el crecimiento y desarrollo de los animales. En cambio, al hablar de aceites esenciales, la palabra “esencial” funciona como un adjetivo derivado de “esencia” (40). Estos aceites pueden almacenarse en distintos tejidos vegetales, como semillas, hojas, flores o frutos, localizándose principalmente en glándulas especializadas o en espacios intercelulares (39).

2.2.4.1 Grupos funcionales de los aceites esenciales

Aldehídos

Benzoico, butanal, cinámico, propanal. Las propiedades que posee son: antiviral, sedativo, espasmolítico (36,37).

Cetonas

Pulegona, tuyona. Son regeneradores celulares, mucolítico, neurotóxico(34).

Alcoholes terpenos

Geraniol, linalol, mentol, citronelol, nerol. Funciona como antiséptico, actúa contra microorganismos, tonificante y espasmolíticos(34).

Ésteres

Acetato de geranilo, acetato de linalilo. Presenta una acción antifúngica, sedante y espasmolítico (34).

Ácidos

Palmítico, acético (35).

Fenoles

Irritante, estimula al sistema inmunológico y antimicrobiano. Por ejemplo, anetol y eugenol(35).

2.2.4.2 Métodos de obtención de aceites esenciales

Hidrodestilación

Este método se basa en la destilación por arrastre con vapor de agua aplicada a determinadas partes de la planta. Durante la ebullición, el vapor de agua se mezcla con el aceite esencial y lo transporta hacia el condensador, donde la mezcla se enfría. Posteriormente se produce la separación entre el aceite esencial, que constituye la fase orgánica, y el agua, que corresponde a la fase acuosa. Debido a que el aceite esencial es menos denso e inmiscible con el agua, tiende a flotar sobre esta, lo que facilita su separación y permite obtener finalmente el aceite esencial libre de agua (41,42).

Pelado o raspado

Este procedimiento se utiliza principalmente para la obtención de aceites esenciales a partir de frutos cítricos. Consiste en dividir la fruta para retirar la pulpa y someter la corteza a un proceso de remojo, lo que permite la liberación de los aceites esenciales presentes en ella y

la posterior formación de una emulsión. Para aislar el aceite esencial, dicha emulsión se somete a un tanque homogeneizador y luego a un sistema de centrifugación, con el fin de romper la emulsión y facilitar la separación del aceite esencial (41,42).

Enfleurage, enflorado o enfloración

Se trata de un método antiguo, pero aún importante cuando la cantidad de aceite esencial es muy baja y permanece en el agua, como ocurre en la hidrodestilación o con aceites sensibles al calor. Este procedimiento consiste en emplear una grasa fría formada generalmente por una parte de sebo purificado y dos partes de manteca de cerdo; además, se añaden estabilizantes y alumbre para favorecer la coagulación de las impurezas. La grasa se extiende sobre placas de vidrio, se estría con peines de madera y luego se colocan los pétalos de las flores. Las placas se apilan en un ambiente fresco, como un sótano, y los pétalos se reemplazan cada 24 o 48 horas, según comiencen a marchitarse. Este proceso se repite durante toda la temporada de cosecha. Finalmente, la grasa impregnada se somete a batido con alcohol etílico durante varios días, hasta lograr la extracción del aceite esencial (41,42).

2.2.5 Micosis

Las enfermedades causadas por micosis cutáneas son muy frecuentes en nuestro medio y se distribuyen universalmente. Por ello estas enfermedades son de frecuente motivo de consulta para el médico en especial para el dermatólogo. Hay datos que nos brindan información sobre la incidencia de esta enfermedad, ya que se halla en progresivo aumento y se indica que cerca del 15 % de la población puede padecer una infección micótica cutánea. Los hongos que provocan micosis cutáneas con mayor frecuencia en nuestro medio son los dermatofitos en

sus tres géneros (*Microsporum*, *Epidermophyton* y *Trichophyton*), así como también las levaduras de los géneros *Candida* y *Malassezia*. Las dermatofitosis y las candidiasis cutáneas adoptan numerosas formas de presentación clínica debido a la aparente simplicidad en el plano etiológico (43).

2.2.6 Dermatofitosis

Las dermatofitosis, conocidas comúnmente como tiñas, son infecciones causadas por un grupo de hongos con afinidad por la queratina, denominados dermatofitos. Estos microorganismos pueden afectar principalmente estructuras queratinizadas y, aunque suelen producir micosis superficiales, comprometen la piel y sus anexos, como las uñas y el cabello (43).

2.2.7 Género *Trichophyton*

Los integrantes de este género presentan una amplia distribución y se consideran causas frecuentes de infecciones en uñas y pies; además, pueden originar tiña corporal, del cuero cabelludo y de la barba (44). Dentro del género se incluyen especies como *T. rubrum*, *T. mentagrophytes*, *T. tonsurans*, *T. verrucosum*, *T. violaceum* y *T. schoenleinii*, reconocidas como importantes agentes de dermatofitosis. Estas especies se caracterizan por producir tricofitinas y por su capacidad de parasitar piel, uñas y cabello. La invasión del pelo suele presentarse en forma endothrix, mientras que en manifestaciones inflamatorias o supurativas puede observarse el patrón endoectothrix. Desde el punto de vista morfológico, este género

se distingue principalmente por la abundante producción de microconidios o microaleuroconidios (45).

2.2.7.1 *Trichophyton rubrum*

T. rubrum es uno de los principales y más frecuentes agentes etiológicos de los dermatofitos, produciendo diversos tipos de tiña, especialmente a nivel corporal (46).

Taxonomía

- Reino:** Fungi
- División:** Ascomycota
- Clase:** Eurotiomycetes
- Orden:** Onygenales
- Familia:** Arthrodermataceae
- Género:** *Trichophyton*
- Especie:** *T. rubrum* Malmsten, 1845

2.2.7.1.1 Características

Se trata de un hongo hialino que puede identificarse a partir de su morfología, así como por sus características nutricionales y fisiológicas (35). A nivel macroscópico, las colonias suelen presentar un aspecto algodonoso de color blanco, con una consistencia firme, mientras que en el reverso se aprecia un pigmento rojo vinoso. Desde el punto de vista microscópico, se

observan microconidias laterales con forma de pera o lágrima, dispuestas de manera alterna y unidas directamente a la hifa (47).

2.2.7.1.2 Cuadro clínico

Las dermatofitosis o tiñas son micosis superficiales que podrían afectar a la piel y faneras (pelo, uñas) de diferentes partes del cuerpo, recibiendo distintos nombres de acuerdo a la función de la zona afectada: tinea corporis, tinea cruris, tinea capitis (pelo), tinea pedis o pie de atleta y tinea unguium u onicomycosis (uña). Las manifestaciones clínicas que se presentan son lesiones eccematosas, incluso en algunas oportunidades se pueden formar vesículas y pústulas, intertrigo o decoloración de las uñas (48,49).

2.2.7.1.3 Cultivo

T. rubrum puede cultivarse en medios comunes como agar glucosado Sabouraud con NaCl al 5 %, agar Littman Oxgall, agar peptona al 1 %, medio de urea de Christensen o agar *Trichophyton*. A partir de estos cultivos se han descrito dos tipos de cepas. La cepa granular produce colonias planas, sin micelio aéreo, con un aspecto que recuerda al polvo de azúcar. Por otro lado, la cepa aterciopelada (downy), que es la más habitual, presenta micelio aéreo algodonoso de color blanco o beige, similar a “colas de conejo”. El reverso de la colonia suele mostrar una tonalidad rosada rojiza, aunque también puede observarse amarillo-marrón, rojo vino o violeta; en algunos casos incluso puede carecer de pigmentación (50).

En el examen microscópico del cultivo suelen observarse hifas largas y delgadas, junto con abundantes microconidias de forma piriforme o redondeada, con dimensiones aproximadas

de $3,0-5,5 \times 2,0-3,5 \mu\text{m}$. Las macroconidias se presentan con menor frecuencia; cuando aparecen, tienen forma alargada similar a un puro o cigarrillo, pared delgada y varios septos, aunque su tamaño puede ser variable (50,51).

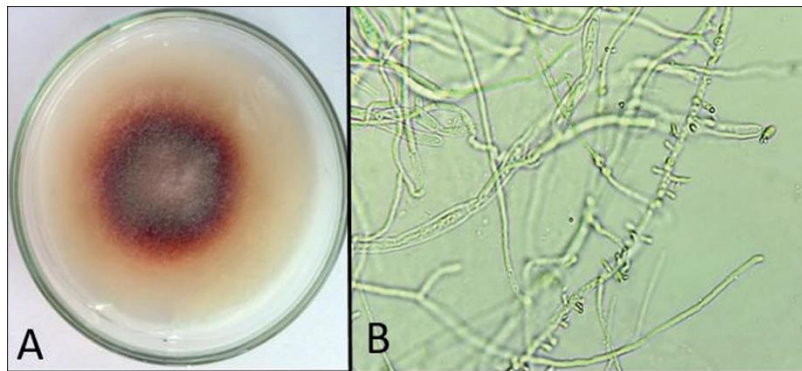


Figura 1. Morfología microscópica y de cultivo de *T. rubrum*. (A y B) colonia con pigmento púrpura e hifas con microconidios con forma redondeada de *T. rubrum* (51)

2.2.7.1.4 Diagnóstico

El diagnóstico diferencial se establece principalmente frente a *T. mentagrophytes*. Por ello, se utiliza la prueba de ureasa, que puede ser positiva para *T. mentagrophytes* y negativa para *T. rubrum*; también se diferencia con la prueba de perforación de pelo, negativa para *T. rubrum* y positiva para *T. mentagrophytes*. Otro método de diagnóstico consiste en la producción de pigmento rojo en el agar dextrosa- maíz o Agar Sabouraud y la formación de un halo verde en el medio de Littman (50).

2.2.7.1.5 Tratamiento

El tratamiento de las dermatofitosis se puede clasificar en tratamientos tópicos o sistémicos; en los casos donde el dermatofito invade el pelo y las uñas, el tratamiento que se recomienda es sistémico (44).

Tratamiento tópico: Hay muchos fármacos en presentación de crema, loción o ungüento, que se recomiendan ser usados por tres semanas (44,48).

Tratamiento sistémico: Es mucho más efectivo que el tópico y se recomienda aplicarlo en los casos de lesiones extensas, como en los casos de tinea capitis o tinea unguium. No existen muchos antifúngicos por vía oral para el tratamiento de las dermatofitosis; además de algunos azoles, la griseofulvina, la terbinafina y la nistatina (44,48).

Griseofulvina: Éste inhibe la mitosis celular fúngica ya que puede destruir la estructura del uso mitótico, interrumpiéndose la metafase en el proceso de división celular. Es recomendado para infecciones fúngicas de la piel, cabello y uñas. Los tratamientos con este fármaco pueden ser largos, sobre todo, si están asociados a tinea unguium, ya que esta puede permanecer hasta 6 meses para uñas de las manos o incluso un año para uñas de los pies (44,48).

Itraconazol: Es un derivado del imidazol altamente lipófilo ya que se une fuertemente a la queratina llegando a alcanzar concentraciones elevadas en piel, pelo y uñas. Dosis en niños de 3 a 16 años se puede emplear 100mg/día (44,48).

Terbinafina: Es un fármaco fungicida que se caracteriza porque se puede unir fuertemente a la queratina y al tejido graso. Está indicada para dermatofitosis de tiña de cuero cabelludo, tiña del cuerpo, tiña de palmas y plantas y tiña de las uñas de los dedos de la mano y de los pies (44,48).

Ketoconazol: Es un fármaco antifúngico de la familia de los imidazoles, se caracteriza por la capacidad de inhibir la síntesis de los corticoides adrenales activo por vía oral. Esta propiedad se le debe a su efecto de poder alterar la síntesis de la membrana celular de los hongos. En el grupo de los imidazoles, se encuentran el clotrimazol, floconazol e imidazol (44).

Fluconazol: Inhibe la síntesis fúngica de esteroides, y se caracterizan por ser usado en el tratamiento de dermatomicosis por Tinea pedis, corporis y cruris (44,48).

Las medicaciones antifúngicas poseen principios activos favorables, y las medicaciones más frecuentes utilizadas son el clotrimazol, miconazol y ketoconazol. Habitualmente, se recomienda que las cremas se apliquen dos veces al día y el tratamiento debe prolongarse por lo menos de 7 a 10 días después de que la erupción haya desaparecido por completo (44,48).

CAPÍTULO III

DISEÑO DE CONTRASTACIÓN DE HIPÓTESIS

3.1 Nivel de Investigación

Explicativo

3.2 Tipo y Diseño de investigación

El presente estudio es de tipo básico, con diseño observacional y transversal

3.3 Diseño metodológico

3.3.1 Material Biológico

Se emplearon aislamientos clínicos de *Trichophyton rubrum* procedentes de cultivos obtenidos de pacientes que acudieron al Laboratorio del área de Patología del Hospital II EsSalud de Cajamarca, para su diagnóstico micológico.

3.3.2 Reactivación de la cepa *Trichophyton rubrum* ATCC™ 28188™

La cepa de referencia *Trichophyton rubrum* ATCC™ 28188™ fue reactivada mediante siembra en agar Sabouraud, ampliamente utilizado para el crecimiento de hongos dermatofitos. Posteriormente, la placa inoculada fue incubada a temperatura ambiente durante siete días, con el fin de permitir el desarrollo adecuado del hongo.

3.3.3 Autorización y transporte de los aislamientos

Se gestionó una autorización formal por escrito dirigida al jefe del Laboratorio del Área de Patología del Hospital II EsSalud de Cajamarca, con el propósito de acceder al cepario institucional. En este se realizó la selección de muestras clínicas de dermatofitos previamente aisladas. Posteriormente, los aislamientos seleccionados fueron transportados bajo condiciones de temperatura ambiente, desde dicho hospital hasta el Laboratorio de Microbiología del Departamento de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de Cajamarca, donde fueron recibidos y procesados para su posterior análisis microbiológico.

3.3.4 Reactivación y evaluación de la pureza de los aislamientos

Los aislamientos seleccionados fueron inoculados en placas con agar Sabouraud e incubados durante cinco semanas, tiempo tras el cual se evaluaron sus características morfológicas macroscópicas. Para la confirmación de los aislamientos clínicos de *Trichophyton rubrum*, se consideraron únicamente aquellas muestras que presentaban el característico pigmento rojizo, considerado como criterio macroscópico distintivo de esta especie de dermatofito (52).

Posteriormente, se realizaron microcultivos, utilizando fragmentos de aproximadamente 0,5 cm² de agar Sabouraud. Estos fragmentos fueron colocados cuidadosamente en el centro de un portaobjetos suspendido sobre un soporte, asegurando que no estuvieran en contacto con el agua destilada utilizada para mantener la humedad del sistema (52).

Una vez montado el agar, se recolectaron propágulos fúngicos con un asa en punta, los cuales fueron sembrados mediante la técnica de punción. Luego, se cubrió el fragmento de agar con un cubreobjetos, permitiendo así la adherencia de las estructuras fúngicas de interés. Este procedimiento se replicó para todos los aislamientos clínicos seleccionados, así como para la cepa de referencia ATCC™ 28188™(52,53).

3.3.5 Obtención de aceites esenciales a partir de hojas de *Laurus nobilis* (laurel) y flores de *Pelargonium graveolens* (geranio)

3.3.5.1 Recolección del material botánico

Se recolectaron aproximadamente 7 kilogramos de hojas de laurel procedentes del centro poblado Huayrapongo, distrito de Los Baños del Inca, departamento de Cajamarca.

En el caso del geranio, se obtuvieron alrededor de 100 gramos de pétalos de flores, procedentes del fundo “Emanuel”, ubicado en el distrito de Gregorio Pita, provincia de San Marcos, departamento de Cajamarca.

Los ejemplares completos de ambas especies vegetales fueron trasladados al Herbario CPUN “Isidoro Sánchez Vega” de la Universidad Nacional de Cajamarca, donde se realizó su respectiva identificación botánica y determinación taxonómica (Anexo 01).

3.3.5.2 Selección y acondicionamiento del material vegetal

Posteriormente, las hojas de laurel y los pétalos de geranio fueron sometidos a un proceso de limpieza y selección. El material vegetal se lavó con agua potable para eliminar restos de

suciedad y contaminantes. Luego, se realizó un enjuague con agua destilada para evitar posibles interferencias microbiológicas. Se seleccionaron manualmente únicamente las hojas y flores en buen estado, descartándose aquellas que presentaban signos de deterioro, daños por insectos o agresiones ambientales (54).

Las muestras seleccionadas fueron sometidas a un proceso de secado en estufa en el Laboratorio de Microbiología del Departamento de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de Cajamarca, con el objetivo de reducir su contenido de humedad. Finalmente, el material vegetal fue trasladado al Laboratorio de Biotecnología de la misma universidad, donde se llevó a cabo la extracción de los aceites esenciales (54).

3.3.5.3 Obtención de los aceites esenciales

Aceite esencial de *Laurus nobilis* (laurel):

La extracción del aceite esencial se realizó mediante el método de arrastre por vapor de agua, siguiendo los pasos descritos a continuación. Las hojas previamente seleccionadas y secas fueron cortadas en pequeños trozos para facilitar la liberación de compuestos volátiles. Se vertieron 10 litros de agua en el tanque generador de vapor. Luego, se colocaron 5,5 kg de hojas de laurel en el recipiente destinado a la muestra. Se ensambló el sistema de destilación compuesto por tanque generador, recipiente para la muestra y condensador, iniciando la circulación de agua en el refrigerante para garantizar la condensación adecuada.

El proceso de extracción se mantuvo durante un periodo de 3 horas. Finalizado este tiempo, se procedió a la separación del aceite esencial del agua destilada mediante una pera de

decantación. El aceite obtenido se envaso en frascos de vidrio ámbar, protegidos de la luz, y se almacenó en refrigeración a 4 °C hasta su utilización en las pruebas biológicas (55).

Aceite esencial de *Pelargonium graveolens* (geranio):

La obtención del aceite esencial de geranio se llevó a cabo siguiendo el mismo procedimiento de arrastre de vapor por agua, utilizando los pétalos de flores como materia prima. Sin embargo, en este caso, el proceso de destilación fue interrumpido una vez obtenido un volumen de 20 mL de destilado, conforme a lo establecido en protocolos previos (55).

3.3.6 Determinación de la actividad antimicótica

3.3.6.1 Evaluación del efecto antifúngico mediante el método de dilución en agar

Para evaluar el efecto antifúngico de los aceites esenciales de *L. nobilis* (laurel) y *P. graveolens* (geranio), se utilizó el método de dilución en agar. Como control positivo se empleó fluconazol (100 mg), mientras que como control negativo se utilizó agua destilada estéril. Las concentraciones evaluadas de los aceites esenciales fueron 2 %, 1 % y 0,5 % v/v, incorporadas directamente en el medio de cultivo.

En cada placa se vertieron 20 mL de medio de cultivo, y de acuerdo con la concentración correspondiente, se añadieron los volúmenes de aceite esencial respectivos: 0,4 mL para el 2 %, 0,2 mL para el 1 % y 0,1 mL para el 0,5 % (56).

3.3.6.2 Preparación del medio de cultivo

Se prepararon placas Petri vertiendo 20 mL de agar Sabouraud fundido en cada una, bajo condiciones estériles. Posteriormente, y antes de que el medio solidificara completamente, se adicionaron los volúmenes correspondientes de cada aceite esencial para alcanzar las concentraciones deseadas: 200 µL para obtener una concentración del 2 %, 100 µL para 1 %, y 50 µL para 0,5%. En el control positivo se incorporaron 0,4 mL de la solución preparada de fluconazol % (57).

Durante la mezcla, se evitó la formación de burbujas, asegurando una distribución homogénea del aceite en el medio. Todo el procedimiento se llevó a cabo bajo condiciones asépticas para prevenir la contaminación de las placas preparadas. Este procedimiento se replicó por separado para los aceites esenciales de *L. nobilis* y *P. graveolens* (57).

3.3.7 Siembra de *Trichophyton rubrum*

La siembra de *T. rubrum*, tanto de los aislamientos clínicos como de la cepa de referencia ATCC™ 28188™, se realizó mediante la técnica de punción, una vez que las placas con el medio suplementado estuvieron completamente solidificadas (52).

Las placas inoculadas se incubaron a temperatura ambiente durante cinco semanas, periodo tras el cual se evaluó el crecimiento fúngico. Con esta información se determinó la Concentración Mínima Inhibitoria Antifúngica (CMIA) de cada tratamiento (52).

Todos los ensayos se realizaron por duplicado, y los resultados se registraron en una ficha de recolección de datos diseñada especialmente para este propósito (Apéndice 07) (52).

3.3.8 Técnicas e Instrumentos de recolección de datos

Para la recolección de información durante el desarrollo del experimento, se empleó la técnica de observación directa, que permitió registrar de manera sistemática las respuestas biológicas generadas por los tratamientos aplicados.

Como instrumento de registro, se utilizaron fichas previamente diseñadas, en las cuales se establecieron variables como: código del aislamiento, tipo de tratamiento aplicado (aceite esencial o control), concentración utilizada, tiempo de incubación y observaciones del crecimiento micótico (Apéndice 08).

3.3.9 Técnicas de procesamiento y análisis de datos

Los datos obtenidos durante el experimento fueron ingresados y procesados en una base de datos mediante el software estadístico IBM SPSS Statistics, versión 27. Para analizar la asociación entre las diferentes concentraciones de los aceites esenciales y su efecto inhibitorio sobre el crecimiento de *Trichophyton rubrum*, se aplicó la prueba de Chi-cuadrado y/o la prueba exacta de Fisher. En todos los análisis, se consideró como significativo un $p \leq 0,05$.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Resultados

4.1.1 Reactivación de la cepa *Trichophyton rubrum* ATCC™ 28188™

Se evaluó el crecimiento in vitro de la cepa de referencia *Trichophyton rubrum* ATCC™ 28188™ en agar Sabouraud sin suplemento antibiótico, a fin de observar sus características morfológicas típicas bajo condiciones controladas.

Tras el periodo de incubación, las colonias presentaron un diámetro considerable, superficie filamentosa y pigmentación rojiza intensa en el reverso del medio. Estas características macroscópicas coinciden con las descritas en la literatura para esta especie, lo que permitió confirmar su identidad y utilizarla como referencia en las pruebas antifúngicas.

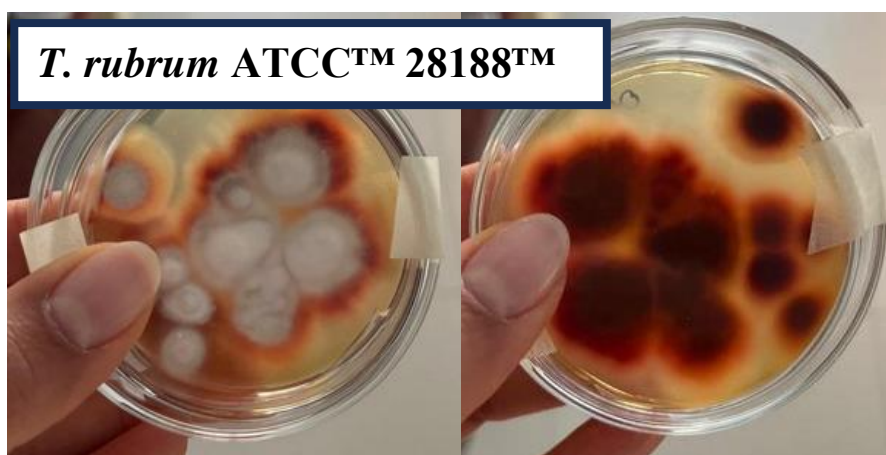


Figura 2. Morfología de las colonias de la cepa *Trichophyton rubrum* ATCC™ 28188™

4.1.2 Reactivación y evaluación de la pureza de los aislamientos clínicos

Los aislamientos clínicos de *Trichophyton rubrum* fueron reactivados mediante siembra en agar Sabouraud. El crecimiento de las colonias se evaluó, considerando aspectos como forma, textura, coloración y borde.

Como resultado se obtuvieron cinco aislamientos puros, los cuales presentaron características compatibles con la morfología típica de *T. rubrum*, y fueron seleccionados para su posterior uso en las pruebas antifúngicas.

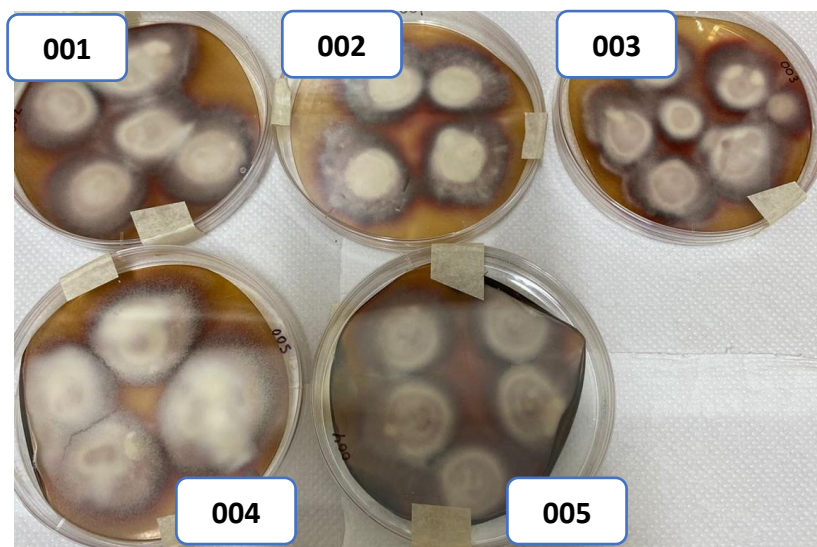


Figura 3. Crecimiento de aislados clínicos de *T. rubrum* en placas de Sabouraud.

4.1.3. Evaluación del efecto antifúngico

Se evaluó la inhibición del crecimiento de *T. rubrum* mediante el uso de aceites esenciales de *L. nobilis* y *P. graveolens* a concentraciones de 2%, 1% y 0,5%. El estudio incluyó cinco aislamientos clínicos (001 - 005) y la cepa de referencia (ATCC). Como control positivo, se empleó fluconazol (100 mg), mientras que el agua destilada estéril se utilizó como control negativo. Después de cinco semanas de incubación, se observó inhibición del crecimiento en

todos los aislamientos clínicos, independientemente de la concentración del aceite esencial evaluado.

4.1.3.1. Aceite esencial de *L. nobilis* (laurel)

En la cepa de referencia *T. rubrum* ATCC 28188, el aceite esencial de *L. nobilis* mostró un efecto inhibitorio notable a la concentración del 2 %. A una concentración del 1 % se evidenció una inhibición parcial del crecimiento, mientras que al 0,5 % no se evidenció ningún efecto inhibitorio *in vitro*.

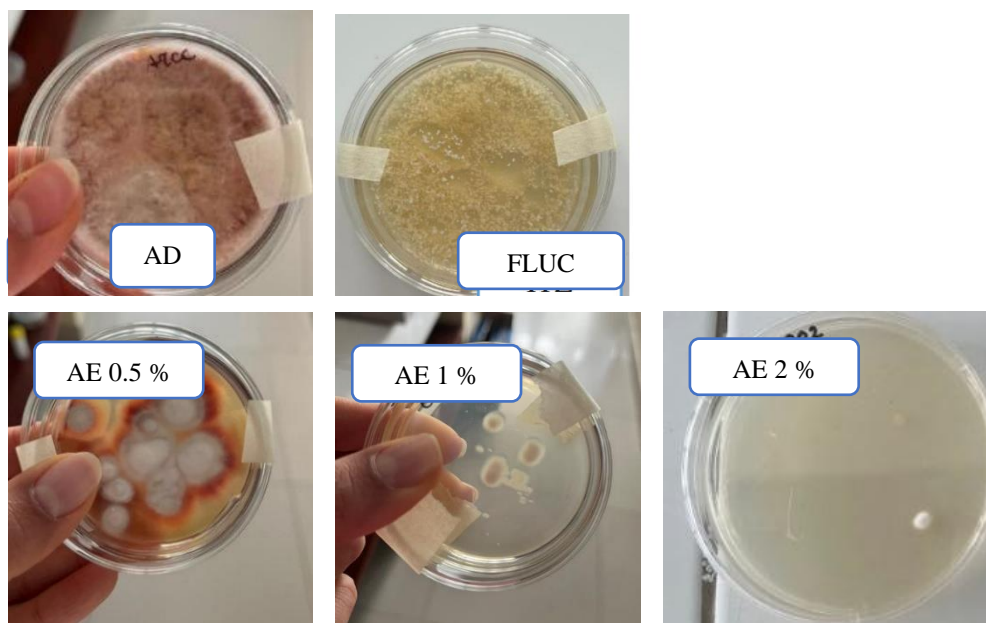


Figura 4. Efecto del aceite esencial de *Laurus nobilis* a diferentes concentraciones sobre la cepa *T. rubrum* ATCC 28188.

El aceite esencial de *L. nobilis* (laurel), inhibió el crecimiento de los aislamientos clínicos de *T. rubrum* en todas las concentraciones evaluadas (2 %, 1 % y 0,5 %), lo que demuestra su eficacia antifúngica independiente de la dosis aplicada.

El análisis estadístico no mostró una asociación estadísticamente significativa, entre las concentraciones del aceite esencial y el grado de inhibición del crecimiento en los aislamientos clínicos de *T. rubrum*.

Tabla 1. Inhibición del crecimiento de *T. rubrum* frente a diferentes concentraciones del aceite esencial de *Laurus nobilis* (laurel) y fluconazol (100mg)

Código de aislamiento	AE 2%	AE 1%	AE 0,5%	FLUC (control positivo)	AD (control negativo)
ATCC 28188	-	-	-	+	-
001	+	+	+	+	-
002	+	+	+	+	-
003	+	+	+	+	-
004	+	+	+	+	-
005	+	+	+	+	-

$p > 0,05$, prueba de Fisher

AE: Aceite esencial de *Laurus nobilis*

FLUC: Fluconazol (100 mg)

AD: Agua destilada

(+): Inhibición de crecimiento

(-): Crecimiento (Sin Inhibición)

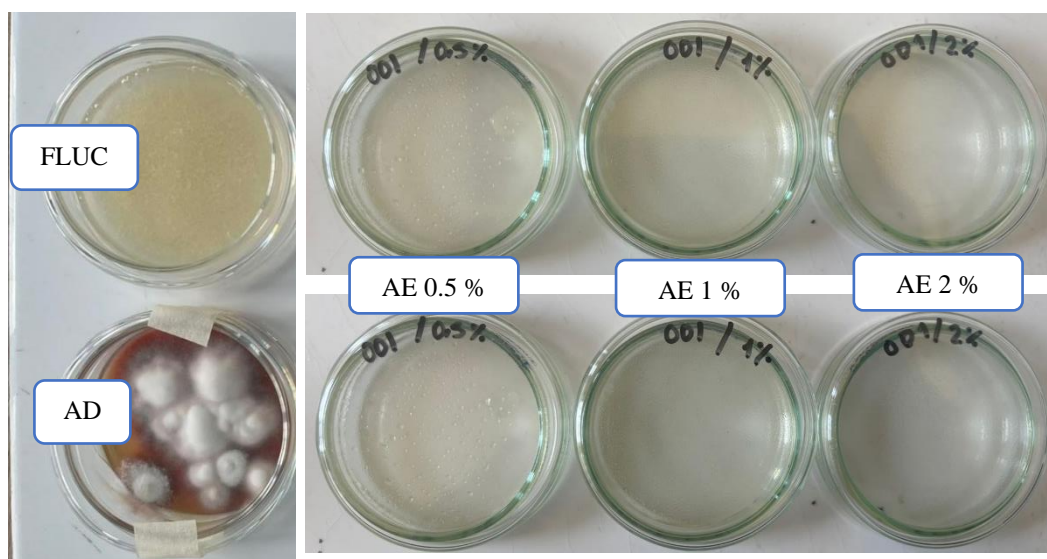


Figura 1. Efecto inhibitorio del aceite esencial de *Laurus nobilis* (laurel) a diferentes concentraciones sobre el aislamiento clínico 001 de *T. rubrum*.

4.1.3.2. Aceite esencial de *Pelargonium graveolens* (geranio)

El aceite esencial de *P. graveolens* (geranio), inhibió el crecimiento de *T. rubrum* en todas las concentraciones evaluadas (2 %, 1 % y 0,5 %). El análisis estadístico no mostró asociación significativa ($p > 0,05$) entre las concentraciones evaluadas y la inhibición del crecimiento de *T. rubrum*.

Tabla 2. Inhibición del crecimiento de *T. rubrum* frente a diferentes concentraciones del aceite esencial de *Pelargonium graveolens* (geranio) y fluconazol (100mg).

Código de aislamiento	AE 2%	AE 1%	AE 0,5%	FLUC (control positivo)	AD (Control negativo)
ATCC 28188	-	-	-	+	-
001	+	+	+	+	-
002	+	+	+	+	-
003	+	+	+	+	-
004	+	+	+	+	-
005	+	+	+	+	-

$p > 0,05$, prueba de Fisher

AD: Agua destilada

AE: Aceite esencial de *Pelargonium graveolens* (geranio)

(+): Inhibición de crecimiento

(-): Crecimiento (Sin Inhibición)

FLUC: Fluconazol (100 mg)

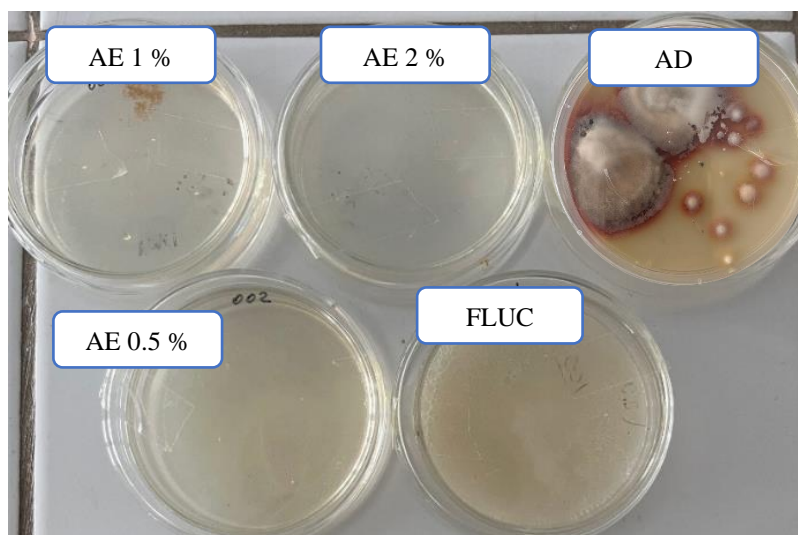


Figura 2. Efecto inhibitorio del aceite esencial de *Pelargonium graveolens* (geranio) a diferentes concentraciones sobre el aislamiento clínico 002 de *T. rubrum*.

4.2 Discusión

La medicina natural, también denominada medicina tradicional, continúa desempeñando un papel relevante dentro de los sistemas de salud, en especial en los países en pleno desarrollo. Incluso en contextos con predominio de la medicina convencional, estas prácticas se han incorporado como complemento terapéutico, respondiendo a la creciente demanda de alternativas seguras y con menor impacto adverso. Su potencial radica en la diversidad de metabolitos secundarios presentes en las plantas, como alcaloides, terpenoides, flavonoides y compuestos fenólicos, responsables de múltiples actividades biológicas (24,34).

Entre estas alternativas, los aceites esenciales, destacan por su compleja composición fitoquímica y sus propiedades antimicrobianas, antiinflamatorias y antioxidantes. En el caso de las infecciones dermatofíticas, se ha demostrado que poseen capacidad inhibitoria frente a hongos patógenos como *T. rubrum* y *T. mentagrophytes*. Estas evidencias respaldan su potencial como estrategia alternativa o coadyuvante en el tratamiento de dermatofitosis, contribuyendo a superar limitaciones asociadas a resistencia o a los efectos adversos de fármacos convencionales (24,34).

En este estudio, se evaluó *in vitro* la actividad antifúngica de los aceites esenciales obtenidos de *L. nobilis* L. (laurel) y *P. graveolens* L. (geranio) frente a aislamientos clínicos de *T. rubrum*, uno de los dermatofitos de mayor importancia clínica debido a su frecuencia y capacidad de producir infecciones crónicas y recurrentes. Los hallazgos confirmaron una inhibición significativa del crecimiento fúngico en todos los aislamientos clínicos, lo que confirma su potencial como agentes antifúngicos naturales. Estos resultados son comparables a los obtenidos con el fluconazol, un antifúngico sintético de gran uso, el cual presenta un

efecto inhibitorio en aislados clínicos de *T. rubrum* (58), lo cual también se corroboró en el presente trabajo.

Nuestros hallazgos coinciden con investigaciones previas, como la realizada por González (59), quien evaluó la actividad antifúngica del aceite esencial de *L. nobilis* frente a distintas especies micóticas resistentes a antifúngicos comerciales, en dicho estudio se evidenció una inhibición significativa del crecimiento fúngico atribuida a la acción de compuestos bioactivos presentes en el aceite, como el eugenol y el eucaliptol. De manera similar, Tandazo (60), evaluó la actividad antifúngica del aceite esencial de *L. nobilis* frente a aislamientos fúngicos de relevancia clínica, utilizando diferentes concentraciones (50 %, 25 % y 10 %), evidenciando un marcado efecto inhibitorio en todas las concentraciones evaluadas. Por otro lado, Valverde, en 2019 (61), demostró que la capacidad de inhibición aumentaba proporcionalmente con la concentración del aceite *L. nobilis*, siendo la dosis más alta (0,1 mL) la que presentó el efecto más marcado sobre el crecimiento fúngico.

Los mecanismos de acción antifúngica del aceite esencial de *L. nobilis* frente a *T. rubrum* se atribuyen principalmente a la acción sinérgica de los compuestos presentes en su composición, tales como el 1,8-cineol, eugenol, linalol y β -cariofileno (16). Estos componentes interactúan con la membrana celular del hongo, alterando su permeabilidad e interfiriendo en la biosíntesis de ergosterol, lo que compromete la integridad y funcionalidad de la célula. Dichos efectos podrían producir mediante diversos procesos, como la inducción estrés oxidativo mediante la generación de especies reactivas de oxígeno, provocando daño en lípidos, proteínas y ácidos nucleicos. También, se ha descrito la inhibición de enzimas relacionadas con la síntesis de la pared celular y el metabolismo energético. En conjunto,

estos mecanismos explican la capacidad inhibitoria del aceite esencial de laurel frente a *T. rubrum* y respaldan su potencial como alternativa natural antifúngica (62).

En cuanto a *P. graveolens* L. (geranio), el presente estudio también corrobora su efecto inhibitorio sobre los aislamientos clínicos de *T. rubrum*, lo que refuerza su potencial como antifúngico natural. Investigaciones previas han documentado la capacidad antifúngica del aceite esencial de geranio frente a diferentes especies micóticas, que se atribuye principalmente a la presencia de metabolitos como los que destacan el citronelol, geraniol y linalol (14). Estos compuestos alteran la permeabilidad y la integridad de la membrana plasmática y, en muchos casos, interfieren con la biosíntesis de ergosterol; y provocan la fuga de iones y material intracelular, colapso del metabolismo y cambios morfológicos en las hifas, además de inducir estrés oxidativo y afectar enzimas clave del metabolismo fúngico (34,35,63).

Estudios realizados en Asia y Europa han puesto en evidencia que el aceite esencial de geranio presenta una eficacia significativa frente a diversos patógenos micóticos, llegando incluso, en ciertos casos, a superar la actividad de antifúngicos convencionales (64,65). De manera similar, en Colombia, se demostró la actividad antimicrobiana del aceite esencial de *P. odoratissimum*, con efectos inhibitorios frente a bacterias y hongos de medicina, entre ellos *Aspergillus brasiliensis*, *Candida albicans*, *T. rubrum* y *T. mentagrophytes*. Estos resultados coinciden con lo observado en el presente estudio, confirmando su amplio espectro antimicrobiano (66).

En relación con el efecto inhibitorio de los aceites esenciales frente a *T. rubrum*, diversos estudios han evidenciado que estos compuestos naturales poseen una actividad antimicótica considerable en comparación con antifúngicos de uso convencional. Un ejemplo de ello se

reporta en España, donde se evaluó la eficacia del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* y *Thymus vulgaris*, los cuales comparte algunos metabolismos con *L. nobilis* y *P. graveolens*. Dichos aceites mostraron una inhibición significativa del crecimiento de *C. albicans*, *T. rubrum* y *T. mentagrophytes*, respaldando su potencial como alternativas terapéuticas. Estos hallazgos concuerdan con los resultados obtenidos en este estudio, donde también se constató la eficacia de aceites esenciales frente a aislamientos clínicos de *T. rubrum* (67).

A nivel nacional, en la Macro Región Norte del Perú, entre los años 2017 y 2020 se llevó a cabo un estudio analítico retrospectivo que recopiló publicaciones relacionadas con *Trichophyton* sp., utilizando bases de datos como CONCYTEC. Los resultados revelaron tendencias importantes respecto al uso de aceites esenciales en infecciones micóticas, en donde se encuentran los aceites probados en el presente estudio como otros que contienen algunos metabolitos similares. El 25 % de los autores concluyeron que los aceites esenciales resultan más efectivos que los antifúngicos convencionales, particularmente frente a cepas como *T. rubrum*; el 12,5 % reportó un efecto sinérgico al combinar aceites esenciales con antifúngicos, y el 37,5 % evidenció inhibición completa del crecimiento de patógenos micóticos al emplear aceites esenciales como única estrategia. Estos hallazgos nacionales guardan estrecha relación con los resultados del presente estudio, ya que confirman la eficacia antifúngica de los aceites esenciales frente a aislamientos clínicos de *T. rubrum* (68).

Aunque no se encontró una asociación estadísticamente significativa entre la concentración del aceite esencial y el crecimiento fúngico, los resultados demostraron que estos aceites evaluados presentan una notable capacidad antifúngica, ya que lograron inhibir el desarrollo del hongo en la mayoría de los ensayos realizados. Cabe señalar que la acción inhibidora fue

consistente en todas las concentraciones analizadas (2 %, 1 % y 0,5 %), lo que sugiere que incluso en dosis bajas el aceite de laurel y de geranio mantienen un efecto estable y eficaz frente a este dermatofito.

La ausencia de inhibición en la cepa ATCC de *T. rubrum* frente los aceites esenciales puede deberse a diferencias genéticas y fisiológicas derivadas de su mantenimiento en condiciones de origen del fabricante. Estas cepas suelen presentar una menor permeabilidad de la pared celular, variaciones en la composición de lípidos de membrana y una baja actividad metabólica, lo que limita la acción de los compuestos volátiles. En contraste, los aislados clínicos, al estar expuestos a condiciones ambientales variables, tienden a mostrar mayor sensibilidad a estos agentes naturales (47, 53).

La importancia de estos hallazgos radica en que los antifúngicos de uso convencional, como los azoles (imidazoles y triazoles), polienos o alilaminas, suelen presentar limitaciones relacionadas con efectos adversos, interacciones medicamentosas o la creciente resistencia de las cepas clínicas. En este contexto, los aceites esenciales representan una alternativa terapéutica prometedora, ya sea como tratamiento independiente o en combinación con fármacos convencionales.

Una de las limitaciones del presente estudio fue la disponibilidad de aislamientos clínicos, debido a que en muchos casos los dermatofitos son descartados antes de una identificación taxonómica detallada. Por lo que se debería incluir un mayor número de aislamientos clínicos para fortalecer la validez de los resultados.

En síntesis, este estudio no solo aporta evidencia experimental sobre la acción inhibitoria de *L. nobilis* y *P. graveolens* frente a *T. rubrum*, sino que también destaca la posibilidad de

considerar a los aceites esenciales como insumos para el desarrollo de nuevas formulaciones antifúngicas, de aplicación clínica. Asimismo, se resalta la necesidad de continuar investigando su eficacia y seguridad en el tratamiento de infecciones dermatofíticas.

CAPITULO V

5.1 Conclusiones

- El aceite esencial de *L. nobilis* (laurel) presentó un efecto inhibitorio in vitro frente a los aislamientos clínicos de *T. rubrum* en todas las concentraciones evaluadas (2 %, 1 % y 0,5 %).
- El aceite esencial de *P. graveolens* (geranio) evidenció también un efecto inhibitorio significativo in vitro sobre los aislamientos clínicos de *T. rubrum* en todas las concentraciones probadas (2 %, 1 % y 0,5 %).

5.2 Recomendaciones

- Evaluar, identificar y caracterizar los compuestos metabólicos presentes en los aceites esenciales de *L. nobilis* y *P. graveolens* (mediante técnicas cromatográficas y espectrométricas), para determinar los compuestos responsables de la actividad antifúngica observada.
- Promover el uso de aceites esenciales como alternativa terapéutica frente a infecciones fúngicas, considerando su potencial como agentes antifúngicos naturales, en especial frente a dermatofitos de relevancia clínica como *T. rubrum*.
- Realizar estudios orientados a evaluar el efecto repotenciador de un coadyuvante en combinación con el aceite esencial, con el propósito de determinar posibles interacciones y su impacto en la eficacia del tratamiento.

- Realizar estudios in vivo, con el propósito de validar el efecto terapéutico, la seguridad y la eficacia de los aceites esenciales de laurel y geranio en el tratamiento de infecciones micóticas.
- Explorar un rango más amplio de concentraciones de aceites esenciales, con el objetivo de determinar la concentración mínima inhibitoria y la concentración mínima fungicida frente a *T. rubrum*.
- Ampliar la evaluación del efecto antifúngico de los aceites esenciales frente a otras especies de dermatofitos de interés clínico como *T. mentagrophytes*, *Microsporum canis* y *Epidermophyton floccosum*.

VI. Referencias Bibliográficas

1. López Luengo MT. Los aceites esenciales. Elsevier [Internet]. 2004;23(7):88–91. Available from: https://es.labo-hevea.com/downloads/HE_es.pdf%0Ahttps://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-los-aceites-esenciales-13064296
2. IDEXX Laboratories. Guía microbiológica para interpretar la concentración mínima inhibitoria (CMI). 2018;
3. Gubelin H W, De La Parra R, Gisen F L. Micosis superficiales. Prensa Med Argent. 1955;42(7):461–72.
4. PEDIAMÉCUM(AEP). Fluconazol. Comité de documentos. :1–5.
5. Arvind Kumar Shakya. Medicinal plants: Future source of new drugs. Int J Herb Med. 2016;4(4):59–64.
6. Mohammadi A, Amrollahi H, Malek F, Nazari H. In vitro antibacterial activity and phytochemical analysis of some medicinal plants. Journal of Medicinal Plants Research. 2014;8(3):186–94.
7. Marcos-Arias C, Eraso E, Madariaga L, Quindós G. In vitro activities of natural products against oral *Candida* isolates from denture wearers. BMC Complement Altern Med [Internet]. 2011;11(1):119. Available from: <http://www.biomedcentral.com/1472-6882/11/119>
8. Vásquez Gonzales J, Díaz D. Efecto antimicótico in vitro del aceite de molle (*Schinus molle* Linneo) sobre *Trichophyton mentagrophytes*. Universidad Alas Peruanas

[Internet]. 2014;1(1):17–9. Available from:
<http://revistas.uap.edu.pe/ojs/index.php/EV/article/view/147>

9. Diogo HC, Melhem M, Sarpieri A, Pires MC. Evaluation of the disk-diffusion method to determine the in vitro efficacy of terbinafine against subcutaneous and superficial mycoses agents. *An Bras Dermatol*. 2010;85(3):324–30.
10. Béjar V, Villanueva F, Guevara JM, González S, Vergaray G, Abanto E, et al. Epidemiología de las dermatomicosis en 30 años de estudio en el Instituto de Medicina Tropical Daniel A Carrión, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú. *Anales de la Facultad de Medicina*. 2014;75(2):167–72.
11. Hernández Guiance SN, Marino L, Isern DM, Coria ID, Irurzun I. Flavonoides: Aplicaciones Medicinales e Industriales. Facultad de Química, Universidad del Centro Educativo Latinoamericano Instituto de Física de Rosario, CCT-CONICET Instituto de Investigaciones Fisicoquímicas Teóricas y Aplicadas - CONICET. 2019;40:11–27.
12. Navas Ortega EP. Estudio invitro del efecto anti fúngico del aceite esencial del *Pelargonium graveolens* (geranio) al 25%, 50%, 75% y 100% sobre cepas de *Candida albicans* ATTC ® 10231TM [Internet] [Tesis de Pregrado]. Universidad Central del Ecuador; 2017. Available from: <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/9731>
13. Gucwa K, Milewski S, Dymerski T, Szweda P. Investigation of the antifungal activity and mode of action of *Thymus vulgaris*, *Citrus limonum*, *Pelargonium graveolens*, *Cinnamomum cassia*, *Ocimum basilicum*, and *Eugenia caryophyllus* essential oils. *Molecules*. 2018;23(5):1–18.

14. Mahboubi M, Valian M. Anti-dermatophyte activity of *Pelargonium graveolens* essential oils against dermatophytes. *Clinical Phytoscience*. 2019;5(1):0–4.
15. Fozouni L. Antifungal Effects of Oregano Essential Oil on Dermatophyte and Non-Dermatophyte Fungi Isolates from Sport Mats : A Report from the Golestan Province, Iran. *Int J Mol Clin Microbiol*. 2021;11(1):1489–94.
16. Al-Mijalli SH, Mrabti HN, Ouassou H, Flouchi R, Abdallah EM, Sheikh RA, et al. Chemical Composition, Antioxidant, Anti-Diabetic, Anti-Acetylcholinesterase, Anti-Inflammatory, and Antimicrobial Properties of *Arbutus unedo* L. and *Laurus nobilis* L. Essential Oils. *Life*. 2022;12(11):1–21.
17. Razzouk S, Mazri MA, Jeldi L, Mnasri B, Ouahmane L, Alfeddy MN. Chemical Composition and Antimicrobial Activity of Essential Oils from Three Mediterranean Plants against Eighteen Pathogenic Bacteria and Fungi. *Pharmaceutics*. 2022;14(8).
18. Allizond V, Cavallo L, Roana J, Mandras N, Cuffini AM, Tullio V, et al. *In Vitro* Antifungal Activity of Selected Essential Oils against Drug-Resistant Clinical *Aspergillus* spp. Strains. *Molecules*. 2023;28(21).
19. Cruz Valverde JL, Quispe Cunalla C. “Efecto antimicótico del extracto etanólico de las hojas secas de *Laurus nobilis* (Laurel) en cepas de *Candida albicans*, *in vitro*.” [Internet] [Tesis de pregrado]. Universidad Inca Garcilaso de la Vega. Universidad Inca Garcilaso de la Vega; 2018. Available from: [http://repositorio.uigv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.11818/2954/008599_Tesis CRUZ VALVERDE JULIA- QUISPE CAUNALLA CECILIA.pdf?sequence=3&isAllowed=y](http://repositorio.uigv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.11818/2954/008599_Tesis%20CRUZ%20VALVERDE%20JULIA-QUISPE%20CAUNALLA%20CECILIA.pdf?sequence=3&isAllowed=y)

20. Raya-Torres M. Efectividad in vivo e in vitro de aceite y extractos de geranio (*Pelargonium graveolens*) en el control de hongos fitopatógenos. [Internet]. [España]: UNIVERSIDAD DE ALMERÍA; 2018 [cited 2025 Sep 5]. Available from: https://repositorio.ual.es/bitstream/handle/10835/7187/TFG_RAYA%20TORRES,%20MARIA%20ELENA.pdf?sequence=1
21. Mahboubi* M, Mahdizadeh E, Tabar RH, Mahboubi* M, Mahdizadeh E, Tabar RH. The anti-candidal activity of *Pelargonium graveolens* essential oils against clinical isolates of *Candida albicans*. Infectio [Internet]. 2018 [cited 2025 Sep 5];22(1):9–12. Available from: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-93922018000100009&lng=en&nrm=iso&tlng=en
22. Nadia EJ. Efecto in vitro del extracto alcohólico y aceite esencial de *Hyptis eriocephala* Benth 1848 (shogon) sobre aislamientos clínicos de *Trichophyton rubrum* causante de onicomiosis [Internet]. [Cajamarca]: Universidad Nacional de Cajamarca; 2024 [cited 2025 Sep 5]. Available from: <https://repositorio.unc.edu.pe/bitstream/handle/20.500.14074/7626/TESIS%20H.%20ERIOCEPHALA%20PRESENTARR.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
23. Haya Palazuelos FJ. Uso práctico de la fitoterapia en ginecología. 1st ed. Editorial Medica Panamericana; 2007. 250 p.
24. Baulies Romero G, Torres Castilla RM. Actualización en fitoterapia y plantas medicinales. FMC. 2012 Mar;19(3):149–60.
25. Enciclopedia de fitoterapia y plantas medicinales - Dr. Josep Lluís Berdonces - Google Libros [Internet]. [cited 2025 Sep 5]. Available from:

https://books.google.com.pe/books?hl=es&lr=&id=SovODwAAQBAJ&oi=fnd&pg=PA6&dq=fitoterapia+plantas+medicinales&ots=LbZ6D71bSc&sig=WILnId5_wntEc4zVdHzQTtCxoYk&redir_esc=y#v=onepage&q=fitoterapia%20plantas%20medicinales&f=false

26. López Gonzáles G. Guía de los árboles y arbustos de la Península Ibérica y Baleares. 2 da. López González G, editor. Ed. Mundi-Prensa, Madrid. Madrid: Ed. MundiPrensa; 2007. 894 p.
27. Forman L, Bridson D. The Herbarium Handbook. Revised ed. Royal Botanic Gardens Kew; 1992. 303 p.
28. Ahmed Chaudhry NM, Tariq P. Bactericidal activity of black pepper, bay leaf, aniseed and coriander against oral isolates. Pak J Pharm Sci. 2006;19(3):214–8.
29. Cahuana Llanos TN. Efecto antibacteriano del aceite esencial de *Laurus nobilis* “laurel” sobre *Escherichia coli* ATCC 25922 comparado con ciprofloxacino. Universidad César Vallejo; 2018.
30. Muñoz F. Plantas medicinales y aromáticas. Alternativa U, Comercial D. 2001;1–2.
31. Herrera Ruiz AM, Jiménez Granda IA. Producción Agroecológica de dos especies aromáticas con tres niveles de un abono orgánico en la industria de plantas aromáticas medicinales, el carmeló (iplamec) Chuquiribamba, Loja. [Internet]. Universidad Nacional De Loja. Universidad Nacional de Loja; 2013. Available from: [http://dspace.unl.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/17025/1/TESIS WILSON FERNANDO.pdf](http://dspace.unl.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/17025/1/TESIS_WILSON_FERNANDO.pdf)

32. Agapito T, Sung I. Fitomedicina: 1100 plantas medicinales tomo II. Editorial Isabel EIRL Perú lima. 2003. 568 p.
33. Zore GB, Thakre AD, Rathod V, Karuppayil SM. Evaluation of anti-*Candida* potential of geranium oil constituents against clinical isolates of *Candida albicans* differentially sensitive to fluconazole: inhibition of growth, dimorphism and sensitization. *Mycoses*. 2011;54(4):e99–109.
34. Graça VC, Ferreira ICFR, Santos PF. Phytochemical composition and biological activities of *Geranium robertianum* L.: A review. *Ind Crops Prod* [Internet]. 2016 Sep 1 [cited 2025 Sep 5];87:363–78. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0926669016302886>
35. Graça VC, Ferreira ICFR, Santos PF. Bioactivity of the *Geranium* Genus: A Comprehensive Review. *Curr Pharm Des* [Internet]. 2020 Jan 14 [cited 2025 Sep 5];26(16):1838–65. Available from: <https://www.benthamdirect.com/content/journals/cpd/10.2174/1381612826666200114110323>
36. Phytochemistry of the genus *Geranium*. *Geranium and Pelargonium*. 2021 Mar 6;32–41.
37. Phytochemistry of the genus *Geranium*. *Geranium and Pelargonium* [Internet]. 2002 Oct 3 [cited 2025 Sep 5];32–41. Available from: <https://www.taylorfrancis.com/chapters/edit/10.1201/9780203216538-8/phytochemistry-genus-geranium-jeffrey-harborne-christine-williams>

38. Guarnizo Franco A, Martínez Yepes PN. Experimentos de Química Orgánica con enfoque en ciencias en la vida. ELIZCOM SAS; 2009. 220 p.
39. Ortuño Sánchez M. Manual práctico de aceites esenciales, aromas y perfumes [Internet]. Vol. 35, Ingeniería industrial. 2006. 195–205 p. Available from: <https://www.redalyc.org/pdf/3374/337453922010.pdf>
40. Carey FA, Giuliano RM. Química orgánica. In: Novena edición. 2014. p. 1–1233.
41. Manual práctico de aceites esenciales, aromas y perfumes - Manuel Francisco Ortuño Sánchez - Google Libros [Internet]. [cited 2025 Sep 5]. Available from: https://books.google.com.pe/books?hl=es&lr=&id=cW5TsDKqx9wC&oi=fnd&pg=PA159&dq=M%C3%A9todos+de+obtenci%C3%B3n+de+aceites+esenciales&ots=LpU0KZjBio&sig=_2a8h9KOnRWiNluY-nCsA_ruExg&redir_esc=y#v=onepage&q=M%C3%A9todos%20de%20obtenci%C3%B3n%20de%20aceites%20esenciales&f=false
42. Véliz-Jaime MY, González-Díaz Y, Martínez-Despaigne Y. Evaluación técnica y económica del proyecto de obtención de aceites esenciales [Internet]. 2019 [cited 2025 Sep 5]. Available from: http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S2224-61852019000100207&script=sci_arttext&tlng=en
43. Parada Jara CZ. Evaluación de la actividad antifúngica del extracto de las hojas de jarilla frente a cepas de *tiña capitis* - Juliaca Noviembre 2014 a Febrero 2015. Universidad Andina “Néstor Cáceres Velásquez.” Universidad Andina Néstor Cáceres Velásquez; 2015.

44. Campozano Estrella NJ, Heras Heras VA. Determinación de la prevalencia de dermatofitosis en los niños de la Escuela de Educación General Básica “Padre Juan Bautista Aguirre” de la parroquia Miraflores de la ciudad de Cuenca. [Internet]. Universidad de Cuenca; 2014. Available from: <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/21010/1/TESIS.pdf>
45. Rivera Rincon Y. Evaluación in vitro de la actividad antifúngica y citotóxica del eugenol y sus derivados semisintéticos frente a *Trichophyton* spp. Universidad de Santander. Universidad Santander; 2018.
46. Rodriguez Villavicencio JE. Efecto Antifúngico del extracto de *Allium sativum* en cepas de *Trichophyton rubrum* ATCC 1344, contrastado con ketoconazol, estudio in vitro. [Internet]. Universidad Cesar Vallejo; 2018. Available from: <https://hdl.handle.net/20.500.12692/25750>
47. DATABIO. *Trichophyton* spp. Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo. 2013;13.
48. de Sousa MGT, Santana GB, Criado PR, Benard G. Chronic widespread dermatophytosis due to *Trichophyton rubrum*: A syndrome associated with a *Trichophyton*-specific functional defect of phagocytes. *Front Microbiol* [Internet]. 2015 Aug 6 [cited 2025 Sep 5];6(AUG):146504. Available from: www.frontiersin.org
49. Cruz Ch. R, Vielle O. P, Cruz Ch. R, Vielle O. P. Actualización en taxonomía, diagnóstico y tratamiento de las dermatofitosis. *Revista chilena de infectología* [Internet]. 2024 Apr 1 [cited 2025 Sep 5];41(2):218–24. Available from:

http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182024000200218&lng=es&nrm=iso&tlng=es

50. Hernández-Salazar A, Carbajal-Pruneda P, Fernández Martínez R, Arenas R. Dermatofitosis por *Trichophyton rubrum*. Experiencia de 10 años (1996-2005) en un servicio de dermatología de un hospital general de la Ciudad de México. Rev Iberoam Micol. 2007;24(2):122–4.
51. Martinez-Rossi NM, Peres NTA, Bitencourt TA, Martins MP, Rossi A. State-of-the-art dermatophyte infections: Epidemiology aspects, pathophysiology, and resistance mechanisms. Journal of Fungi. 2021 Aug 1;7(8).
52. Urcia A F, Guevara R M. Eficacia de medios de cultivo con infusiones de variedades de papa en la identificación del *Trichophyton rubrum*. Eficacia de Medios de Cultivo con Infusiones de Variedades de Papa en la Identificación del *Trichophyton rubrum*. 2002;19(4):206–8.
53. Microbiologics : 0444P *Trichophyton rubrum* derived from ATCC® 28188™* KWIK-STIK [Internet]. [cited 2025 Sep 5]. Available from: <https://www.microbiologics.com/0444P>
54. Rodríguez Álvarez M. Procedimientos para la extracción de aceites esenciales en plantas aromáticas. Cent Investig Biol del Noroeste,SC . 2012;1–47.
55. Díaz Carranza I. Actividad antioxidante in vitro del aceite esencial de las hojas de *Laurus nobilis* “laurel” cultivada en Cajamarca. Universidad Privada Antonio Guillermo Urrelo; 2020.

56. Yuri Irwin JG. Actividad antimicótica del aceite esencial de *Citrus aurantium* L. “naranja” frente a la cepa de *Trichophyton mentagrophytes*. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga; 2015.
57. PEREZ PAUCAR PD, CABRERA SALAZAR YF. Actividad antimicótica In vitro del aceite esencial de las hojas de *Origanum vulgare* L. (ORÉGANO) frente a *Candida albicans* ATCC 10231 y *Trichophyton rubrum* ATCC 28188. 2020.
58. Gross-Martínez NT, Ureña-Sánchez M, Chaves-Madrigal O. Sensibilidad al fluconazol de aislamientos de *Trichophyton rubrum*. Acta Med Costarric [Internet]. 2014 Mar [cited 2025 Oct 7];56(1). Available from: https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?pid=S0001-60022014000100005&script=sci_arttext
59. Gonzales-Mera SI. Actividad antifúngica de aceites esenciales aislados de plantas nativas del sur de Chile contra hongos filamentosos de importancia clínica. [Internet]. [Chile]: Universidad Austral de Chile; 2014 [cited 2025 Sep 5]. Available from: <http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2014/fcg643a/doc/fcg643a.pdf>
60. Peralta GET. Acción antifúngica in vitro del extracto de laurel “*Laurus nobilis*” frente a la *Candida albicans*. Revista Vive [Internet]. 2025 May 1 [cited 2025 Sep 5];8(23):392–405. Available from: <https://www.revistavive.org/index.php/revistavive/article/view/614>
61. Valverde Caballero M. Caracterización fisicoquímica y actividad antifúngica del aceite esencial de laurel (*Laurus nobilis*) en hongos aislados de tallarines de casa.

- Repositorio institucional - UNAMBA [Internet]. 2019 May 16 [cited 2025 Sep 5]; Available from: <http://repositorio.unamba.edu.pe/handle/UNAMBA/732>
62. Requejo A. Aceites esenciales en sinergia [Internet]. I edición. Aceites esenciales en sinergia. ExLibric; 2020 [cited 2025 Oct 7]. 178–401 p. Available from: https://books.google.com/books/about/Aceites_esenciales_en_sinergia.html?hl=es&id=k1ApEAAAQBAJ
63. Stegmayer E DE, Inés M, Hortensia N, Julieta M, Guadalupe A, Alejandra M, et al. Evaluación del aceite esencial de *Pelargonium graveolens* para prevenir la podredumbre morena en durazno. Investigation Joven [Internet]. 2023 [cited 2025 Sep 5];10, no. 2. Available from: <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/166733>
64. Villar Rodríguez J, Pérez-Pico AM, Mingorance-Álvarez E, Mayordomo Acevedo R. Meta-analysis of the antifungal activities of three essential oils as alternative therapies in dermatophytosis infections. J Appl Microbiol [Internet]. 2022 Aug 1 [cited 2025 Sep 5];133(2):241–53. Available from: <https://dx.doi.org/10.1111/jam.15539>
65. Mahdizadeh E, & TRH. The anti-candidal activity of *Pelargonium graveolens* essential oils against clinical isolates of *Candida albicans*. Infectio. 2018;22(1):9–12.
66. Miguel L, Ospina P, Matulevich Peláez JA, Borrego Muñoz P, Castrillón Cardona WF, Barajas Villamizar L. Composición química y actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Pelargonium odoratissimum* (L) Thér (geraniaceae). Revista Facultad de Ciencias Básicas [Internet]. 2016 Jan 15 [cited 2025 Sep 5];12(1):74–83. Available from: <https://revistas.umng.edu.co/index.php/rfcb/article/view/1856>

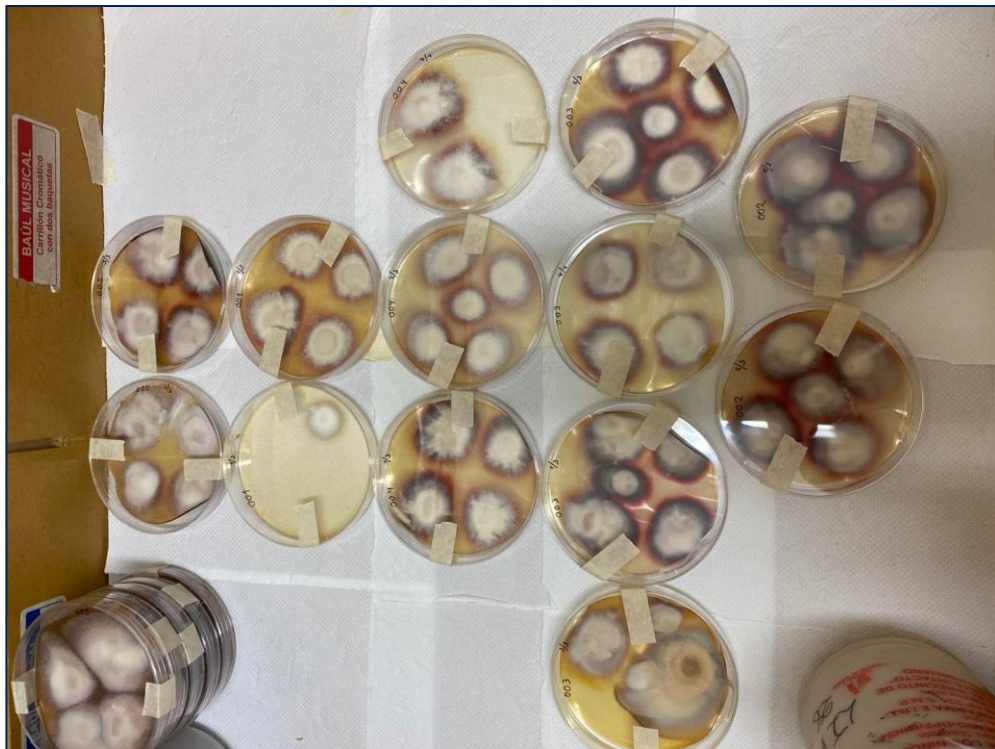
67. Junio A, Merma Ccana C, Tomaylla Cruz C, Del Carpio Jiménez C. Actividad anti-*Trichophyton rubrum* del aceite esencial de *Clinopodium brevicalyx* y elaboración de una emulsión tópica. Revista de Investigaciones Altoandinas [Internet]. 2020 May 30 [cited 2025 Sep 5];22(2):182–90. Available from: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2313-29572020000200182&lng=es&nrm=iso&tlng=es
68. Quispe Yovera PI, Falla Llanos JJ. Estudio comparativo de la sensibilidad de *Trichophyton* sp. frente a aceites esenciales en comparación con los antifúngicos en la Macro Región Norte entre los años 2017-2020. 2022 [cited 2025 Sep 5]; Available from: <http://repositorio.unprg.edu.pe/handle/20.500.12893/10879>

VII. Apéndices.

Apéndice N° 01. Selección y aislamiento de aislados de *T. rubrum* en placas con agar Sabouraud.

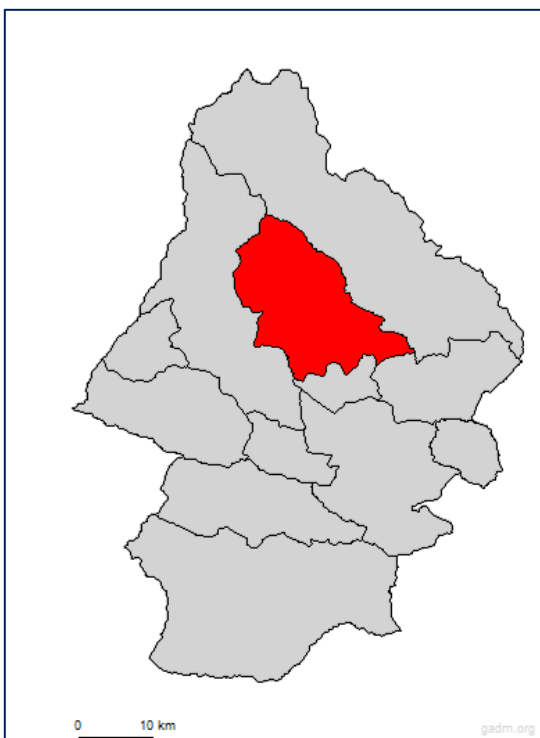


Cepas clínicas

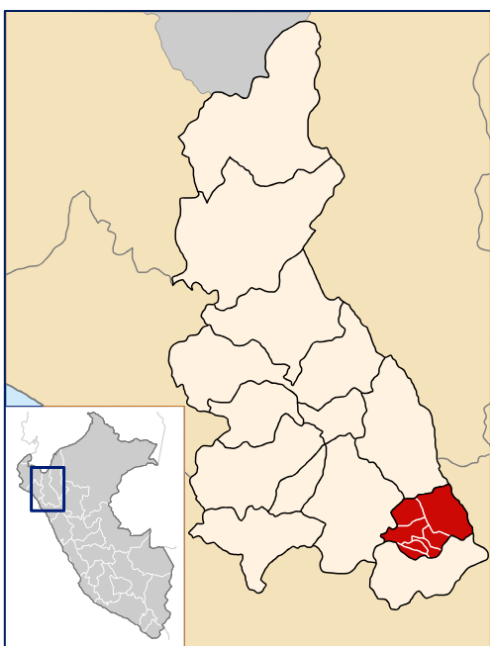


Aislamiento en placa de agar Sabouraud

Apéndice N° 02. Lugar de recolección de las muestras vegetales para la obtención de aceites esenciales.



Centro poblado Huayrapongo, ubicado en el distrito de Los Baños del Inca, departamento de Cajamarca.



Procedentes del fundo “Emanuel”, ubicado en el distrito de Gregorio Pita, provincia de San Marcos, departamento de Cajamarca.



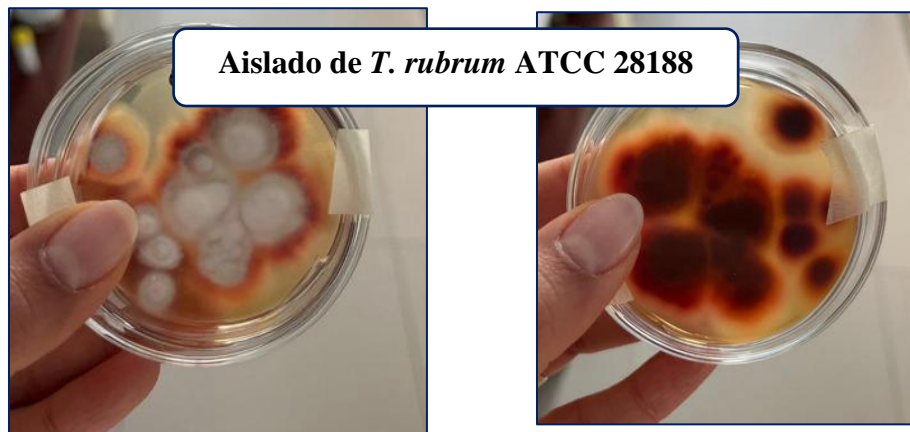
Apéndice N° 03. Reactivación de *T. rubrum* ATCC 28188



T. rubrum ATCC 28188

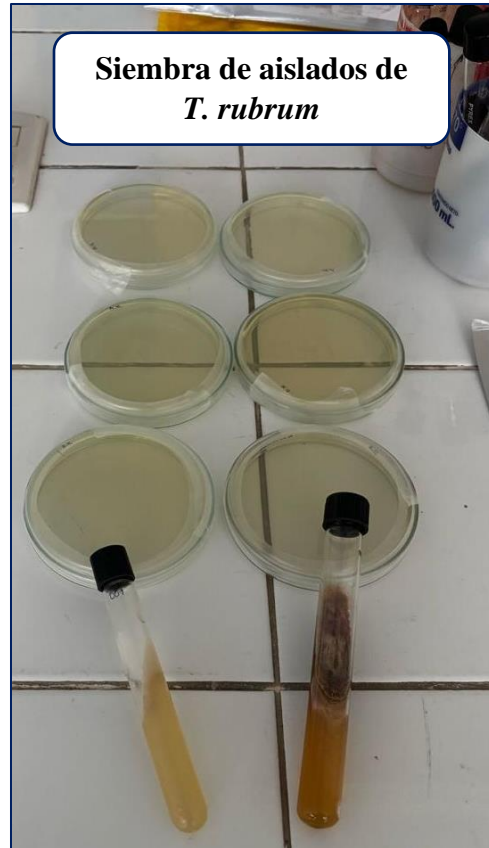


Siembra de *T. rubrum*
ATCC 28188



Aislado de *T. rubrum* ATCC 28188

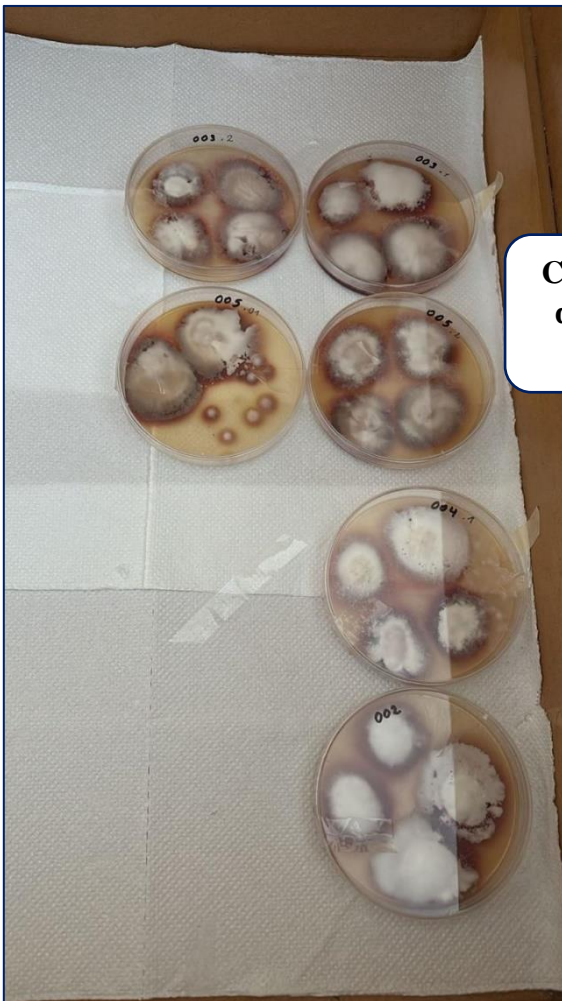
Apéndice N° 04. Cultivo y confirmación de aislamientos clínicos de *T. rubrum*



Crecimiento de aislados de *T. rubrum* en placa durante 02 semanas



Crecimiento de aislados de *T. rubrum* en placa durante 05 semanas



Apéndice N° 05. Obtención del aceite esencial de Laurel (*Laurus nobilis*) y *Pelargonium graveolens* (geranio).



**Sistema de extracción de
aceite esenciales**





Equipo de extracción de aceites esenciales



Verificación de extracción de aceites esenciales



Obtención de extracción de aceites esenciales

Apéndice N° 06. Preparación de medios de cultivos, enriquecido por aceites esenciales.



**Preparación de medio de cultivo
para especies micóticas, agar
Sabouraud.**



**Enriquecimiento del agar
Sabouraud con diferentes
concentraciones de aceites esenciales**

Apéndice N° 07. Evaluación del efecto antimicótico del aceite esencial de Laurel (*Laurus nobilis*) y *Pelargonium graveolens* (geranio).

Aceite esencial de Laurel (<i>Laurus nobilis</i>)	
Aislado clínico 001	
Medio de crecimiento	Efecto
2%	+
1%	+
0.5%	+
Fluconazol	+
Agua destilada	-
Aislado clínico 002	
Medio de crecimiento	Efecto
2%	+
1%	+
0.5%	+
Fluconazol	+
Agua destilada	-
Aislado clínico 003	
Medio de crecimiento	Efecto
2%	+
1%	+
0.5%	+

Fluconazol	+
Agua destilada	-
Aislado clínico 004	
Medio de crecimiento	Efecto
2%	+
1%	+
0.5%	+
Fluconazol	+
Agua destilada	-
Aislado clínico 005	
Medio de crecimiento	Efecto
2%	+
1%	+
0.5%	+
Fluconazol	+
Agua destilada	-

Leyenda:

(+): Inhibición de crecimiento

(-): Crecimiento (Sin Inhibición)

Aceite esencial de <i>Pelargonium graveolens</i> (geranio)	
Aislado clínico 001	
Medio de crecimiento	Efecto
2%	+

1%	+
0.5%	+
Fluconazol	+
Agua destilada	-
Aislado clínico 002	
Medio de crecimiento	Efecto
2%	+
1%	+
0.5%	+
Fluconazol	+
Agua destilada	-
Aislado clínico 003	
Medio de crecimiento	Efecto
2%	+
1%	+
0.5%	+
Fluconazol	+
Agua destilada	-
Aislado clínico 004	
Medio de crecimiento	Efecto
2%	+
1%	+
0.5%	+

Fluconazol	+
Agua destilada	-
Aislado clínico 005	
Medio de crecimiento	Efecto
2%	+
1%	+
0.5%	+
Fluconazol	+
Agua destilada	-

Leyenda:

(+): Inhibición de crecimiento

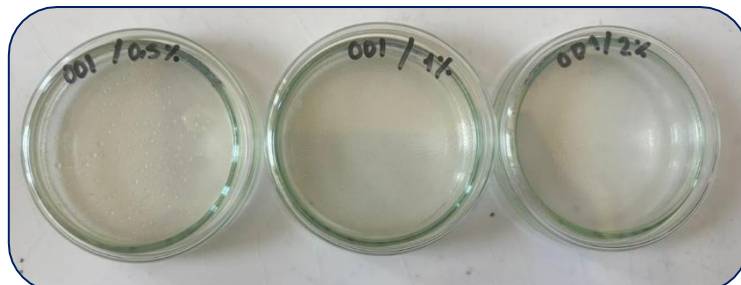
(-): Crecimiento (Sin Inhibición)

Apéndice N° 09. Resultados del efecto in vitro de aceite esencial de laurel frente a aislados clínicos de *T. rubrum*.

Testigo de Aislado clínico 001



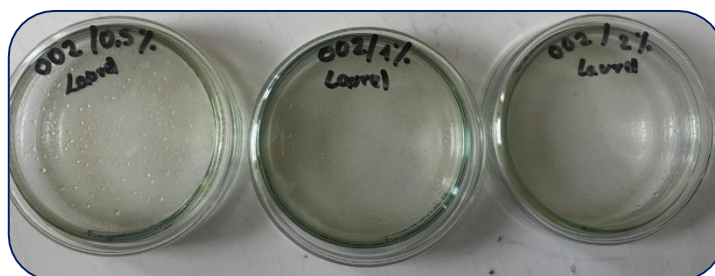
Aislado clínico 001 en diferentes concentraciones de aceite esencial de laurel



Testigo de Aislado clínico 002



Aislado clínico 002 en diferentes concentraciones de aceite esencial de laurel



Testigo de Aislado clínico 003



Aislado clínico 003 en diferentes concentraciones de aceite esencial de laurel



Testigo de Aislado clínico 004



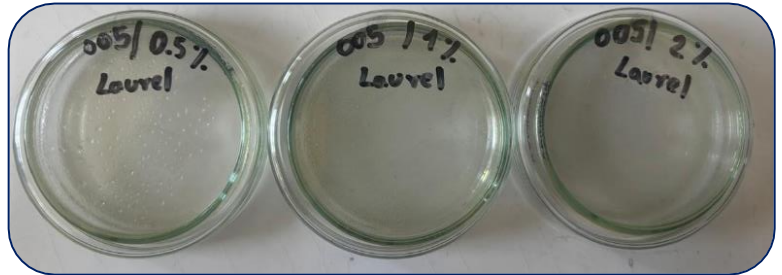
Aislado clínico 004 en diferentes concentraciones de aceite esencial de laurel



Testigo de Aislado clínico 005

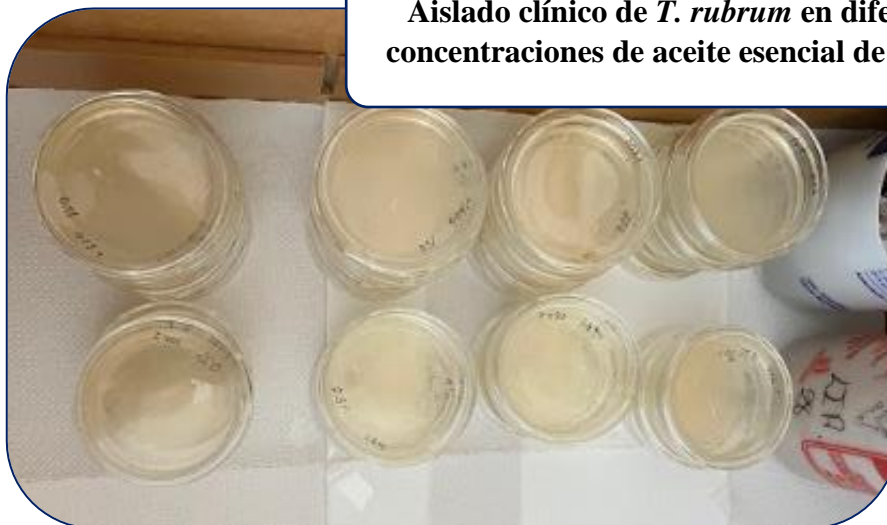


Aislado clínico 005 en diferentes concentraciones de aceite esencial de laurel

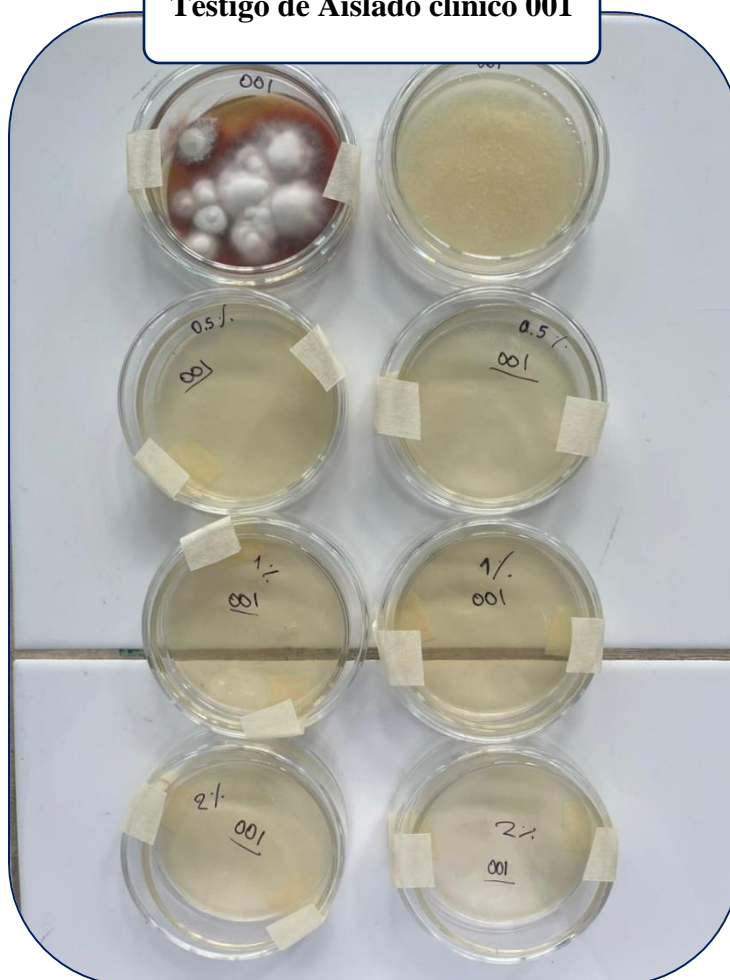


Apéndice N°10. Resultados del efecto in vitro de aceite esencial de geranio frente a aislados clínicos de *T. rubrum*.

Aislado clínico de *T. rubrum* en diferentes concentraciones de aceite esencial de geranio



Testigo de Aislado clínico 001



Apéndice N°11. Análisis estadístico entre la presencia de efecto inhibitorio frente a *T. rubrum* y concentración de aceites esenciales de laurel y geranio.

Resumen de procesamiento de casos

	Válido		Casos Perdido		Total	
	N	Porcentaje	N	Porcentaje	N	Porcentaje
crecimiento * concentración	18	100,0%	0	0,0%	18	100,0%

Tabla cruzada crecimiento*concentración

Recuento

		concentración			Total
		0.5 %	1 %	2 %	
crecimiento	Inhibido	5	5	5	15
	Crecimiento	1	1	1	3
Total		6	6	6	18

Pruebas de chi-cuadrado

	Valor	df	Significación asintótica (bilateral)	Significación exacta (bilateral)	Significación exacta (unilateral)	Probabilidad en el punto
Chi-cuadrado de Pearson	,000 ^a	2	1,000	1,000		
Razón de verosimilitud	,000	2	1,000	1,000		
Prueba exacta de Fisher	,446			1,000		
Asociación lineal por lineal	,000 ^b	1	1,000	1,000	,645	,289
N de casos válidos	18					

a. 3 casillas (50.0%) han esperado un recuento menor que 5. El recuento mínimo esperado es 1.00.

b. El estadístico estandarizado es .000.

VIII. Anexos.

Anexo 01. Informe de la clasificación taxonómica de *Laurus nobilis* L. (laurel) y *Pelargonium graveleons* (geranio)



UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
ÁREA DE BOTÁNICA
HERBARIO CPUN "ISIDORO SÁNCHEZ VEGA"
herbariocpun@gmail.com Av. Abajayta N° 1050 - Cajamarca



EL QUE SUSCRIBE, CURADOR DEL HERBARIO CPUN "ISIDORO SÁNCHEZ VEGA", DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA – PERÚ

HACE CONSTAR:

Que, la muestra botánica conocida como "laurel", procedente del Centro poblado Huayrapongo, ubicado a 7.167560° de latitud y 78.462759° de longitud a 2750 msnm en el distrito de Baños del Inca y "geranio" obtenido del fundo "Emanuel" 7.273532° de latitud y 78.159807° de longitud a 2252 msnm. distrito de Gregorio Pita provincia de San Marcos del departamento de Cajamarca, fueron presentados por la Bachiller: **Diana Elizabeth Escalante Villanueva** de la Escuela Académico Profesional de Biología y Biotecnología de la Universidad Nacional de Cajamarca. Este trabajo forma como parte del Proyecto titulado: "**Efecto in vitro de los aceites esenciales de *Laurus nobilis* L. (laurel) y *Pelargonium graveolens* L. (geranio) sobre aislamientos clínicos de *Trichophyton rubrum***". Ambas muestras has sido analizadas y determinadas científicamente en nuestra institución:

- | | |
|-------------------------------------|---|
| • División: Magnoliophyta | • División: Magnoliophyta |
| • Clase: Magnoliosida | • Clase: Magnoliosida |
| • Orden: Laurales | • Orden: Geraniales |
| • Familia: Lauraceae | • Familia: Geraniaceae |
| • Género: <i>Laurus</i> | • Género: <i>Pelargonium</i> |
| • Especie: <i>Laurus nobilis</i> L. | • Especie: <i>Pelargonium graveolens</i> L'Hér. |

Se expide el presente para los fines que sean necesarios.



Cajamarca, 14 de octubre del 2024

M.Sc. Ing. Juan F. Montoya Quino
Curador del Herbario CPUN "Isidoro Sánchez Vega" UNC

INSTRUCTIONS FOR USE



- KWIK-STIK™
- LYFO DISK™
- QC Sets and Panels: KWIK-STIK™

INTENDED USE

KWIK-STIK™ and LYFO DISK™ are intended to be external clinically-relevant viable control materials (as specified in Annex 1 by catalog number) to assist in identification of cultured microorganism isolates, and to verify the performance of assays, reagents, or media that are intended to be used in microbial testing. These products have no qualitative or quantitative assigned value. These control materials are nonautomated and not intended to be used for screening, monitoring, or diagnosis. These controls are not intended for any specific patient population or specimen.

SUMMARY AND PRINCIPLES

Microorganisms with known and predictable characteristics are used in quality control, education, and proficiency programs.

PRINCIPLE

KWIK-STIK and LYFO DISK microorganisms provide equivalent results to traditional methods used in preparing, storing, and maintaining reference stock cultures. These control materials do not have metrological traceability as the unit of measure is the identity of the organisms. The microorganism preparations are traceable to the American Type Culture Collection (ATCC®) or other authentic reference culture collections.

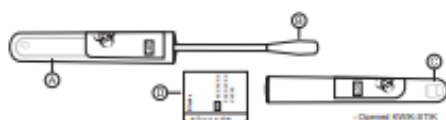
COMPOSITION

KWIK-STIK and LYFO DISK pellets contain a pure population of microorganisms and excipients for the purpose of structure and/or stability including gelatin, skim milk, ascorbic acid, carbohydrate, and charcoal.

The identity of the microorganism is indicated on the product label. Traceability to the culture collection strain is also included on the product label.

PRODUCT DESCRIPTION

- A. KWIK-STIK:** Each KWIK-STIK unit contains a lyophilized microorganism pellet, an ampoule of hydration fluid, and an inoculating swab. Each device is sealed within a laminated pouch that contains a desiccant to prevent adverse moisture accumulation. KWIK-STIK microorganisms are ≤ 3 passages from the reference culture and are guaranteed to recover when processed using the recommended media and incubation requirements. KWIK-STIKs are available in packs of two or six.



KWIK-STIK Key Figures


- A - Glass ampoule containing sterile hydration fluid
- B - Swab
- C - Pellet containing microbial culture
- D - Pull-tab portion





- B. LYFO DISK:** LYFO DISK microorganisms are packaged in a resealable vial that contains 6 lyophilized microorganism pellets and a desiccant to prevent adverse moisture accumulation. The LYFO DISK microorganisms are ≤ 3 passages from the reference culture and are guaranteed to recover when processed using the recommended media and incubation requirements.
- C. QC Sets and Panels: KWIK-STIK:** Each set or panel contains multiple KWIK-STIKs bundled together for convenience for commonly used technologies, standards, instruments, or test methods.

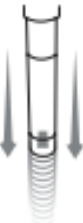



ILLUSTRATED INSTRUCTIONS


- 


1 Allow the unopened KWIK-STIK pouch to equilibrate to room temperature. Tear open pouch at notch and remove the KWIK-STIK unit.
- 


2 Tear off pull-tab portion on the label and attach it to the primary culture plate or QC record. Do not disassemble the device during hydration.
- 


3 Over the edge of the work bench or counter, crack the ampoule at the top of the KWIK-STIK (just below the fluid meniscus) to release the hydration fluid. Crack the ampoule only once. Cracking the ampoule multiple times may cause glass shards to puncture the plastic housing, creating a risk for injury.
- 



4 Hold vertically and tap on a hard surface to facilitate flow of the fluid through the shaft into the bottom of the unit where the pellet is contained. Do not shake the KWIK-STIK and do not cover the small vent hole on the top of the KWIK-STIK.
- 

5 Using a pinching action on the bottom portion of the unit, crush the pellet in the fluid until the pellet has dissolved.
- 

6 Immediately heavily saturate the swab with the hydrated material and transfer to the appropriate agar medium or use according to the laboratory's SOP. Use immediately upon hydration.
- 

7 Inoculate the primary culture plate(s) by gently rolling the swab over one-third of the plate.
- 

8 Using a sterile loop, streak to facilitate colony isolation.
- 

9 Using proper biohazard disposal, discard the KWIK-STIK. 
- 


10 Immediately incubate the inverted inoculated primary culture plate(s) at temperature and conditions appropriate to the microorganism.
Culture method can be found on the product's page at microbiologics.com

Streak Plate Method with KWIK-STIK™




ILLUSTRATED INSTRUCTIONS


The Streak Plate Method is recommended for isolating individual bacterial or fungal colonies. It can be used when starting with a Microbiologics product such as a KWIK-STIK™ or when simply sub-culturing a colony from one agar plate to another. Freshly isolated colonies should be used when performing biochemical, genetic, or antimicrobial susceptibility testing. Please note, the below instructions demonstrate the streak plating technique with Microbiologics KWIK-STIK™.

- 


1

Label an agar plate. For advice on media and incubation conditions, refer to TIB.081, Recommended Growth Requirements.
- 

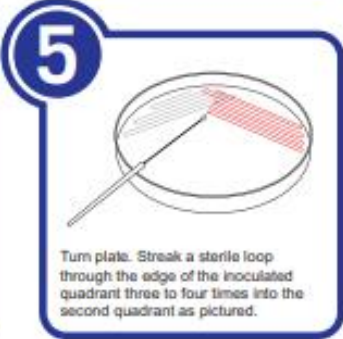
2

Hydrate a KWIK-STIK™ unit according to the instructions for use. Ensure the swab is heavily saturated with the rehydrated material.
- 


3

Gently inoculate one-third of the plate with the swab or sterile loop.
- 

4


Streak a sterile loop through the inoculated area of the plate four to five times.
- 

5

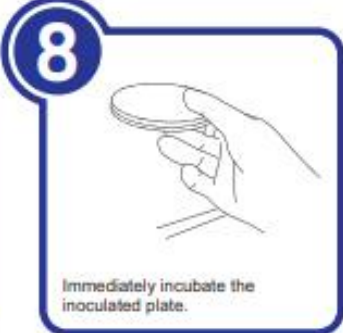
Turn plate. Streak a sterile loop through the edge of the inoculated quadrant three to four times into the second quadrant as pictured.
- 

6


Turn plate. Streak loop through edge of second quadrant three to four times into the third quadrant as pictured.

**For some microorganism species, streaking into only three quadrants will yield isolated colonies.*
- 

7

Turn plate. Streak loop through edge of the third quadrant three to four times into the fourth quadrant as pictured.
- 

8

Immediately incubate the inoculated plate.
- 

9

Note: Sterilizing loop between each area will achieve maximum isolation of colonies.

Anexo 02. Procedimiento de preparación de Agar Sabouraud suplementado con aceite esencial para ensayos antifúngicos.

MEDIOS DE CULTIVO

AGAR SABOURAUD

Fundamento

Medio de cultivo recomendado para el aislamiento y desarrollo de hongos, particularmente los asociados con infecciones cutáneas (piel, pelo). En el medio de cultivo, la peptona, la tripteína y la glucosa son los nutrientes para el desarrollo de microorganismos. El alto contenido de glucosa, la presencia de cloranfenicol y el pH ácido, inhiben el desarrollo bacteriano y favorecen el crecimiento de hongos y levaduras. El agar es el agente solidificante.

Fórmula (en gramos por litro)

- Peptona 5.00gr.
- Tripteína 5.00gr.
- Glucosa 40.00gr.
- Cloranfenicol 0.05gr.
- Agar 5.00gr.
- pH final: 5.6 ± 0.2

Preparación

- Suspender 65 g del polvo en 1 litro de agua purificada.
- Reposar 5 minutos y mezclar hasta uniformar.

- Calentar agitando frecuentemente y hervir 1 minuto hasta disolver completamente.
- Distribuir en tubos o en otros recipientes apropiados.
- Esterilizar en autoclave a 118-121 °C durante 15 minutos.
- Distribuirse en placas de Petri estériles, y con la mayor esterilidad posible agregar a cada placa un determinado volumen de aceite esencial de acorde a la concentración necesaria y a prueba.

Nota: mantener en lugar fresco, pues la exposición al calor aumenta la hidrólisis de los componentes.