



UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA



FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL BIOLÓGIA Y BIOTECNOLOGÍA

TESIS

Efecto *in vitro* del extracto alcohólico y aceite esencial de *Hyptis eriocephala* Benth

1848 (shogon) sobre aislamientos clínicos de *Trichophyton rubrum* causante de

onicomicosis

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE

BIÓLOGO BIOTECNÓLOGO

Presentado por:

**Autora:** Bach. Nadia Marité Escalante Juárez

**Asesora:** Dra. Mblga. Claudia Carolina Rodríguez Ulloa

Cajamarca - Perú

2024

## CONSTANCIA DE INFORME DE ORIGINALIDAD

- Investigador: **Nadia Marité Escalante Juárez**  
DNI: **70286678**  
Escuela Profesional/Unidad UNC: **ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA Y BIOTECNOLOGÍA**
- Asesor:  
**Dra. Mblga. CLAUDIA CAROLINA RODRÍGUEZ ULLOA**  
Facultad/Unidad UNC: **FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD**
- Grado académico o título profesional al que accede:  
 Bachiller     Título profesional     Segunda especialidad  
 Maestro     Doctor
- Tipo de Investigación:  
 Tesis     Trabajo de investigación     Trabajo de suficiencia profesional  
 Trabajo académico
- Título de Trabajo de Investigación:  
**Efecto in vitro del extracto alcohólico y aceite esencial de *Hyptis eriocephala* Benth 1848 (shogon) sobre aislamientos clínicos de *Trichophyton rubrum* causante de Onicomiosis**
- Fecha de evaluación del antiplagio: **16/1/2025**
- Software antiplagio:  **TURNITIN**     **URKUND (OURIGINAL) (\*)**
- Porcentaje de Informe de Similitud: **20%**
- Código Documento: **oid:3117:421406834**
- Resultado de la Evaluación de Similitud:  
 **X APROBADO**     **PARA LEVANTAMIENTO DE OBSERVACIONES O DESAPROBADO**

Cajamarca, 20 de enero del 2025



\* En caso se realizó la evaluación hasta setiembre de 2023

Copyright ©  
**ESCALANTE JUÁREZ NADIA MARITÉ**  
Todos los derechos reservados

## FICHA CATALOGRÁFICA

Escalante, N. 2024. **Efecto *in vitro* del extracto alcohólico y aceite esencial de *Hyptis eriocephala* Benth 1848 (shogon) sobre aislamientos clínicos de *Trichophyton rubrum* causante de onicomicosis** / Escalante Juárez, Nadia Marité.

Asesor: Dra. Mblga. Claudia Carolina Rodríguez Ulloa

Disertación académica para obtener el título profesional de Biólogo Biotecnólogo  
UNC - 2024

“Efecto *in vitro* del extracto alcohólico y aceite esencial de *Hyptis eriocephala* Benth 1848 (shogon) sobre aislamientos clínicos de *Trichophyton rubrum* causante de onicomicosis”

**AUTORA:** Bach. Nadia Marité Escalante Juárez

**ASESORA:** Dra. Mblga. Claudia Carolina Rodríguez Ulloa

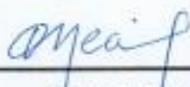
Tesis evaluada y aprobada para obtención del Título Profesional de Biólogo Biotecnólogo de la Universidad Nacional de Cajamarca, por los siguientes jurados.

**JURADO EVALUADOR**



---

PRESIDENTE  
Dr. Nilton Eduardo Deza Arroyo



---

SECRETARIA  
Dra. Carmen Eddy Medina Rodríguez



---

VOCAL  
Dr. José Armando Padilla Sobrados



**MODALIDAD "A"**  
**ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS PARA LA OBTENCIÓN DEL**  
**TÍTULO PROFESIONAL DE BIÓLOGO BIOTECNÓLOGO**

En Cajamarca, siendo las 09:05 am del 16 de enero del 2025, 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 Decanato de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Nacional de Cajamarca, dan inicio a la sustentación de tesis denominada:

Efecto invitó del extracto alcohólico y aceite esencial de Hyptis eriocephala Benth 1848 (Shogon) sobre aislamientos clínicos de Trichophyton rubrum causante de onicomicosis

del (a) Bachiller en Ciencias Biológicas:

Nadia Marié Escalante Juárez

Siendo las 09:25 am del mismo día, se da por finalizado el proceso de evaluación, el Jurado Evaluador da su veredicto en los siguientes términos: Aprobado, con el calificativo de: 17, con lo cual el (la) Bachiller en Ciencias Biológicas se encuentra Apto para la obtención del Título Profesional de: **BIÓLOGO BIOTECNÓLOGO**.

Miembros Jurado Evaluador Nombres y Apellidos		Firma
Presidente:	<u>Dr. Nilton Eduardo Deza Arroyo</u>	
Secretario(a):	<u>Dra. Carmen Eddy Medina Rodriguez</u>	
Vocal:	<u>Dr. José Armando Padilla Sobrados</u>	
Accesitaria:		
Asesor (a):	<u>Dra. Hblga Claudio Carolina Rodríguez Ulloa</u>	
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, cuya sabiduría y apoyo incondicional han sido el faro que ha guiado mi camino personal y profesional. A mi querido esposo, por ser mi compañero en cada paso de este viaje, brindándome siempre su amor y motivación, y a mi adorable hijo, cuya curiosidad y paciencia me inspiran a ser mejor cada día.

Esta tesis es una muestra de nuestro esfuerzo y amor compartido.

## **Agradecimiento**

Agradezco a Dios, cuya sabiduría, guía y fortaleza han sido una constante en la realización de este trabajo de investigación.

Agradezco a mi asesora, la Dra. Claudia Rodríguez Ulloa, por su incalculable apoyo y paciencia a lo largo de este proceso, su experiencia y dedicación fueron pilar fundamental para la realización del mismo.

Asimismo, agradezco a la Dra. Jéssica Bardales Valdivia y al M. Cs. Luis Carlos Alcalde Vargas, por brindarme su ayuda que ha contribuido significativamente en el desarrollo de mi tesis.

Finalmente, mi agradecimiento también va dirigido a los profesionales de los laboratorios de microbiología de la red asistencial de ESSALUD y del Hospital Regional de Cajamarca, quienes brindaron las muestras necesarias para poder desarrollar el presente trabajo de investigación.

## Tabla de contenido

Titulo.....	xii
Resumen.....	xiii
Abstract.....	xiv
<b>CAPÍTULO I.....</b>	<b>1</b>
<b>INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
<b>CAPÍTULO II.....</b>	<b>3</b>
<b>MARCO TEÓRICO.....</b>	<b>3</b>
<b>2.1 Antecedentes de la Investigación.....</b>	<b>3</b>
<b>2.2 Bases Teóricas.....</b>	<b>6</b>
2.2.1 <i>Hyptis eriocephala</i> .....	6
2.2.2 Compuestos bioactivos de <i>Hyptis eriocephala</i> .....	7
2.2.3 Aceite esencial.....	9
2.2.4 Métodos de extracción de aceite esencial.....	9
2.2.5 Extracto alcohólico.....	11
2.2.6 Métodos de obtención de extractos.....	11
2.2.7 <i>Trichophyton rubrum</i> .....	13
2.2.8 Mecanismo de infección.....	14
2.2.9 Tinea ungueal u onicomicosis dermatofítica.....	15
2.2.10 Otras infecciones dermatofíticas.....	16
2.2.11 Tratamiento.....	17
<b>2.3 Definición de términos básicos.....</b>	<b>18</b>
<b>CAPÍTULO III.....</b>	<b>19</b>
<b>DISEÑO DE LA CONTRASTACIÓN DE LA HIPÓTESIS.....</b>	<b>19</b>
<b>3.1 Diseño de la Investigación.....</b>	<b>19</b>
<b>3.2 Material biológico.....</b>	<b>19</b>
<b>3.3 Procedimiento.....</b>	<b>19</b>
3.3.1 Identificación taxonómica de <i>H. eriocephala</i> .....	19
3.3.2 Colección de la muestra vegetal.....	20
3.3.3 Selección y desinfección de la muestra vegetal.....	20
3.3.4 Obtención de extracto alcohólico.....	20
3.3.5 Obtención del aceite esencial.....	21
3.3.6 Reactivación de la cepa <i>T. rubrum</i> ATCC™ 28188™.....	21
3.3.7 Confirmación de aislamientos clínicos de <i>T. rubrum</i> .....	21

3.3.8	Determinación del efecto antifúngico mediante el método de dilución en agar	22
3.3.9	Preparación del medio de cultivo .....	22
3.3.10	Siembra de <i>T. rubrum</i> .....	23
3.4	Técnicas e Instrumentos de recolección de datos .....	23
3.5	Técnicas de Procesamiento y Análisis de Datos .....	23
CAPÍTULO IV	.....	24
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	.....	24
4.1	Resultados.....	24
4.1.1	Evaluación del efecto antifúngico.....	24
4.2	Discusión.....	28
CAPÍTULO V	.....	33
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	.....	33
5.1	Conclusiones .....	33
5.2	Recomendaciones.....	33
LISTA DE REFERENCIAS	.....	34
APÉNDICES	.....	44
ANEXOS	.....	77

## **Lista de abreviaciones**

**AE:** Aceite esencial

**AD:** Agua destilada

**EA:** Extracto alcohólico

**ATCC:** American Type Culture Collection

**CMIA:** Concentración mínima inhibitoria antifúngica

## **Glosario**

### **Aceite esencial**

Mezcla de sustancias altamente volátiles y olorosas presentes en las plantas, que debido a estas características pueden aislarse mediante destilación al vapor; químicamente están compuestas por metabolitos vegetales secundarios aromáticos (1).

### **Extracto alcohólico**

Preparados concentrados, que pueden ser de consistencia sólida, líquida o semisólida, generalmente derivados de material vegetal, se obtienen mediante diversos procesos, utilizando como solvente etanol (2).

### **Itraconazol**

Antimicótico triazólico sintético, con amplio espectro de actividad, su mecanismo de acción se basa en la depleción del ergosterol, acción que daña a la membrana celular, modificando sus funciones y permeabilidad del hongo (3).

### **Concentración mínima inhibitoria antifúngica (CMIA)**

La CMIA, es la concentración mínima de un antifúngico para inhibir el crecimiento de hongos (4).

**Efecto *in vitro* del extracto alcohólico y aceite esencial de *Hyptis eriocephala* Benth  
1848 (shogon) sobre aislamientos clínicos de *Trichophyton rubrum* causante de  
onicomicosis**

## **Resumen**

En la presente investigación, se evaluó el efecto *in vitro* del extracto alcohólico y del aceite esencial de *Hyptis eriocephala* Benth, sobre el crecimiento de aislamientos clínicos de *Trichophyton rubrum*. Se utilizó cepas de esta especie fúngica obtenidas a partir de aislamientos de pacientes con onicomicosis de los laboratorios de microbiología de la red asistencial de ESSALUD y del Hospital Regional de Cajamarca. El extracto vegetal fue preparado por maceración, mientras que el aceite esencial de *H. eriocephala*, se obtuvo mediante destilación por arrastre de vapor. Se evaluó el efecto inhibitorio tanto del extracto alcohólico como del aceite esencial sobre cinco aislamientos clínicos y en una cepa de referencia *T. rubrum* ATCC® 28188™ por el método de dilución en agar. Los resultados mostraron que el aceite esencial a las concentraciones de 2%, 1% y 0,5% poseía un efecto inhibitorio sobre los aislamientos clínicos; mientras que el extracto alcohólico no mostró efecto inhibitorio sobre el crecimiento fúngico. Por lo tanto, se concluye que el aceite esencial de *H. eriocephala* exhibe un efecto inhibitorio *in vitro* sobre el crecimiento de *T. rubrum* en todas las concentraciones evaluadas, en contraste con el extracto alcohólico de esta especie, que no mostró efecto sobre el crecimiento de este dermatofito.

**Palabras clave:** Aceite esencial, extracto alcohólico, onicomicosis, *Trichophyton rubrum*, *Hyptis eriocephala*, efecto antifúngico.

## **Abstract**

In the present research, the *in vitro* effect of the alcoholic extract and the essential oil of *Hyptis eriocephala* on the growth of *Trichophyton rubrum* was evaluated. Strains of this fungal species isolated from patients with onychomycosis from the microbiology laboratories of the ESSALUD healthcare network and the Cajamarca Regional Hospital were used. The plant extract was prepared by maceration, while the essential oil of *H. eriocephala* was obtained by steam distillation. The inhibitory effect of both the essential oil and the alcoholic extract on clinical isolates and on a reference strain *T. rubrum* ATCC® 28188™ was evaluated by the agar dilution method. The results showed that the essential oil at concentrations of 2%, 1% and 0.5% had an inhibitory effect on clinical isolates; while the alcoholic extract did not show any inhibitory effect on fungal growth. Therefore, it is concluded that the essential oil of *H. eriocephala* exhibits a inhibitory effect *in vitro* on the growth of *T. rubrum* at all concentrations evaluated; in contrast to the alcoholic extract of this species, which showed no effect on the growth of this dermatophyte.

**Keywords:** Essential oil, alcoholic extract, onychomycosis, *Trichophyton rubrum*, *Hyptis eriocephala*, antifungal effect.

## CAPÍTULO I

### INTRODUCCIÓN

A nivel mundial, la fitoterapia es considerada un pilar fundamental en la solución de diversos problemas de salud y se valora como un tratamiento no invasivo para afecciones tanto agudas como crónicas. En el Perú, su variada geografía favorece el crecimiento de una gran diversidad de plantas medicinales, de las cuales el 76 % de la población las reconoce y utiliza como terapia alternativa (5). Cajamarca es considerada como una de las regiones que tiene gran diversidad en plantas con fitoconstituyentes medicinales, muchas de las cuales han demostrado su potencial terapéutico (6)(7)(8)(9)(10); sin embargo, aún existen especies como *Hiptys eriocephala* que no han sido estudiadas en profundidad, por lo que sus propiedades paliativas continúan siendo desconocidas.

Dentro del género *Hiptis*, se ha demostrado que algunas especies presentan efectos antibacterianos y antimicóticos, especialmente frente a diversos dermatofitos (11)(12)(13), los cuales son causantes de diferentes afecciones a la piel, el cabello y sobre todo en uñas. Aunque estas infecciones no suelen poner en peligro la vida de las personas, generan consecuencias estéticas, físicas, psicosociales y ocupacionales significativas. Un aspecto clave de la patogenicidad de los dermatofitos es su vía de transmisión, que ocurre a través del contacto directo o indirecto con lesiones o fómites contaminados (14).

En el Perú, la prevalencia de onicomicosis es del 54,3 %, siendo las uñas de los pies la zona más afectada. En Cajamarca, esta afección tiene una prevalencia del 49 %, siendo *Trichophyton rubrum* el principal agente infeccioso (15)(16). El tratamiento para la onicomicosis causada por este dermatofito, se basa en el uso de drogas antifúngicas

aplicadas de manera tópica y sistémica, empleando usualmente imidazoles, este tratamiento muchas veces se ve comprometido por la resistencia generada debido al uso inadecuado de los fármacos (17). A esto se suma que muchos pacientes no completan el tratamiento debido a la forma de administración o evitan acudir a establecimientos de salud por vergüenza, incomodidad o inseguridad causadas por la enfermedad.

Dada esta situación, el objetivo de la presente investigación fue evaluar el efecto *in vitro* del del extracto alcohólico y del aceite esencial de *Hyptis eriocephala* Benth sobre el crecimiento de aislamientos clínicos de *Trichophyton rubrum*. Para ello, se obtuvo el extracto alcohólico mediante maceración y el aceite esencial por medio de la técnica de arrastre de vapor. La muestra vegetal fue recolectada en el centro poblado de Yumagual, distrito de San Juan, provincia de Cajamarca; las muestras microbiológicas provinieron de aislamientos obtenidos en los laboratorios de microbiología de la red asistencial de ESSALUD y del Hospital Regional de Cajamarca. El efecto inhibitorio se evaluó en los aislamientos clínicos, así como en la cepa de referencia *T. rubrum* ATCC® 28188™, utilizando el método de dilución en agar.

## CAPÍTULO II

### MARCO TEÓRICO

#### 2.1 Antecedentes de la Investigación.

En Brasil, De Oliveira y colaboradores (11) evaluaron la actividad antifúngica *in vitro* del aceite esencial y las fracciones acuosa, hexánica y metanólica de *H. ovalifolia* sobre *Microsporum canis*, *M. gypseum*, *T. rubrum* y *T. mentagrophythes*. El aceite esencial fue obtenido mediante destilación al vapor y las fracciones acuosa y alcohólicas fueron extraídas utilizando cloroformo y agua, para luego ser disueltas en dimetilsulfóxido (DMSO). Los extractos fueron sometidos a una dilución seriada al doble en agar Dextrosa Sabouraud con cloranfenicol y cicloheximida, logrando obtener concentraciones desde 3,9 hasta 1000 µg/mL. Se utilizó el método de pocillos utilizando la terbinafina (10 µg/mL) como control positivo. Los resultados mostraron que la fracción acuosa inhibió el crecimiento en un 40 % (24/60), la fracción metanólica en un 90 % (54/60), la hexánica en un 51,7 % (31/60), mientras que el aceite esencial inhibió el 100 % de los 60 dermatofitos probados. Se concluyó que *T. rubrum* fue la especie más susceptible a la mayoría de las fracciones analizadas, siendo tres de sus aislamientos inhibidos por la fracción metanólica a 125 µg/mL y dos aislamientos inhibidos por el aceite esencial a 7,8 µg/mL.

Por otro lado, Adamu y colaboradores (18) en Nigeria investigaron el efecto antifúngico del extracto acuoso de *H. spicigera* en concentraciones de 50, 25, 12,5, 6,25, 3,13 y 1,67 mg/mL sobre *Aspergillus parasiticus*, *A. fumigates*, *Fusarium proliferatum* y *F. oxysporum*. La actividad antifúngica fue evaluada mediante el método de difusión en pocillos de agar, obteniendo como resultado halos de inhibición con un diámetro de 21,33 mm para *A. parasiticus*, 17,67 mm para *A.*

*fumigates*, 18,33 mm para *F. proliferatum* y 18 mm para *F. oxysporum*. La concentración mínima inhibitoria (CIM) se determinó usando el método de dilución en caldo Papa Dextrosa. *A. fumigates* y *F. proliferatum* tuvieron una CIM de 6,25 mg/mL, *A. niger* y *F. oxysporum* mostraron una concentración de 12,5 mg/mL mientras que la CIM de *A. parasiticus* fue de 3,13 mg/mL.

Otra especie de *Hyptis* estudiada fue *H. lanceolata*. En Brasil, Salvial y colaboradores (19) investigaron la acción antifúngica del extracto crudo de esta planta frente a *Candida albicans*, *C. krusei* y *C. parapsilosis*, empleando la técnica de microdilución en caldo con nistatina como control. Los resultados indicaron una CMI de 62,5 µg/mL para *C. krusei*, mientras que para *C. albicans* y *C. parapsilosis* fue de 125 µg/mL. Así mismo, Santos y colaboradores (15) estudiaron el efecto antimicótico de *H. martiusii* sobre *C. albicans*, *C. krusei* y *C. tropicalis*, utilizando el método de microdilución en caldo BHI al 10 %, con concentraciones de extracto entre 8 µg/mL y 1024 µg/mL. Los resultados mostraron una CMI de 256 µg/mL contra la cepa de *C. krusei*; sin embargo, no se observó actividad antifúngica relevante contra *C. albicans* y *C. tropicalis*.

En el Perú, no se han reportado estudios que evalúen la actividad antifúngica de plantas del género *Hyptis*. Solo se ha documentado el trabajo de Briceño y Chávez(12) quienes demostraron la actividad antibacteriana de *H. eriocephala* y presentaron los resultados del análisis fitoquímico, identificando alcaloides, fenoles, taninos, lactonas y triterpenos, compuestos con propiedades antimicóticas. Sin embargo, sí existen investigaciones sobre plantas de otros géneros pertenecientes a la familia Lamiaceae, a la cual también pertenece *H. eriocephala*.

Merma y colaboradores (20) investigaron la actividad del aceite esencial de *Clinopodium brevicalyx* (Cjuñuca) sobre *T. rubrum* ATCC 28188. El aceite esencial fue obtenido mediante hidrodestilación. La sensibilidad de este dermatofito se evaluó por el método de difusión en disco, y la concentración mínima inhibitoria se determinó por el método de macrodilución en caldo, obteniendo como resultado una CMI de 125 µL/mL. Así mismo se evaluó la emulsión tópica con diferentes porcentajes de aceite esencial, la cual presentó actividad antimicótica a partir del 12,5 %; concluyendo, que tanto el aceite esencial y la emulsión al 12,5 % tienen actividad antifúngica contra *T. rubrum*.

En esa misma línea, Aguilar y Juep (21) determinaron la actividad antimicótica *in vitro* del extracto hidroalcohólico de las flores de *Tropeolum majus* L. (mastuerzo) a concentraciones de 5, 10, 20, 40 y 80 µL/mL frente a *Sporothrix schenckii*, utilizando el método dilución en agar, además se incluyó un grupo control negativo, exento del extracto. Los resultados mostraron inhibición total del crecimiento de *S. schenckii* a las diferentes concentraciones, mientras que en la placa control el crecimiento del hongo fue positivo.

De manera similar, Mendoza y Monsalve (22) demostraron la actividad antifúngica del aceite esencial de *Salvia sagittata* (salvia azul), sobre *Sporothrix schenckii* mediante el método de dilución en agar, empleando cinco concentraciones (5, 10, 20, 40 y 80 µL/mL) y utilizando fluconazol e itraconazol como controles positivos. En todas las concentraciones evaluadas se observó inhibición del crecimiento de *S. schenckii*, concluyendo que el aceite esencial de salvia azul tiene un efecto antifúngico sobre esta especie.

## **2.2 Bases Teóricas**

### **2.2.1 *Hyptis eriocephala***

La especie *Hyptis eriocephala* Benth pertenece al género *Hyptis*, dentro de la familia Lamiaceae, la cual se destaca por su elevado contenido de aceites esenciales, así mismo, en propiedades antioxidantes y antimicrobianas, lo que les otorga un valor significativo en la medicina tradicional. (23).

#### **Taxonomía**

Dominio: Eukarya

Reino: Plantae

Phylum: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Lamiales

Familia: Lamiaceae

Género: *Hyptis*

Especie: *Hyptis eriocephala* Benth

#### **Características morfológicas de *Hyptis eriocephala***

Santa Cruz (24), en un estudio realizado en la provincia de Santa Cruz, región Cajamarca, describe a esta especie como: “Hierbas con tallos tetraédricos, erectos. Hojas basales con pecíolo de 1-3 cm, las apicales cortamente pecioladas; ovadas, membranáceas, base obtusa, ápice agudo, borde irregularmente dentado, haz finamente pubescente, verdoso; envés con pubescencia glauca; de 2-4 cm de largo, 1,5-2,5 cm de ancho. Verticilastos axilares, en cabezuelas con pedúnculos de 3-4 cm. Flores cortamente pediceladas, con cáliz hirsuto, morado; corola lilacina, pequeña”.

## **Características farmacognósticas del género *Hyptis***

Las especies del género *Hyptis* han despertado un gran interés farmacológico debido a su diversa composición química. Se han utilizado tradicionalmente como antimicrobianos (12)(25)(26)(13), antioxidantes, antiespasmódicos (27), antiinflamatorios (28), y antimicóticos (11)(18)(19)(29)(30).

### **2.2.2 Compuestos bioactivos de *Hyptis eriocephala***

#### **Alcaloides**

Los alcaloides son compuestos que contienen átomos de nitrógeno básico, y son sintetizados por diversos organismos, incluyendo bacterias, hongos, animales, y plantas. Este compuesto bioactivo se encuentra entre las sustancias vegetales más eficientes terapéuticamente; por lo regular, los alcaloides son altamente tóxicos; sin embargo, en pequeñas cantidades tienen un marcado efecto paliativo (31). Se ha demostrado que los alcaloides poseen propiedades antibacterianas, antifúngicas y antihelmínticas (32). Su actividad antifúngica se basa en la inhibición de la traducción proteica, la inhibición de enzimas como las hidrolasas y adenilato ciclasa, y la alteración del transporte iónico, lo que compromete la estabilidad de las membranas celulares (33).

#### **Fenoles**

Los compuestos fenólicos son metabolitos vegetales secundarios que poseen uno o varios anillos aromáticos con uno o más grupos hidroxilos que son responsables de sus características bioactivas (34). Generalmente se encuentran en plantas de las familias Ericaceae, Rosaceae, Vitaceae, Asteraceae, Lamiaceae y Boraginaceae. Gracias a su composición química, pueden utilizarse como antisépticos, bactericidas, calmantes y fungicidas (35). Los fenoles ejercen su efecto antifúngico mediante la inactivación de los

sistemas enzimáticos fúngicos que son esenciales para la producción de energía y la síntesis de componentes estructurales (34).

### **Taninos**

Los taninos son compuestos astringentes naturales que se encuentran comúnmente en distintas partes de las plantas, donde juegan un papel crucial en su supervivencia. Estos compuestos han sido ampliamente estudiados *in vitro* debido a sus propiedades bactericidas, antifúngicas y antivirales. Su actividad se basa en la capacidad de unirse irreversiblemente a las proteínas de las membranas celulares mediante grupos amino, lo que interfiere en la función normal de las células (36).

### **Lactonas**

Las lactonas son compuestos ampliamente distribuidos en la naturaleza y presentan un perfil biológico diverso, que incluye propiedades antifúngicas, antibióticas, antihelmínticas, antitumorales, antivirales, antiinflamatorias y citostáticas (37). Estas características las convierten en candidatos potenciales para el desarrollo de nuevos fármacos.

### **Triterpenos**

Los triterpenos son uno de los grupos de compuestos naturales más diversos y abundantes en las plantas. Estas moléculas complejas pueden actuar potencialmente como moléculas de señalización y como protección frente a patógenos y plagas (38). Además, los triterpenos poseen propiedades anticancerígenas, antiinflamatorias, antioxidantes, antivirales, antibacterianas y antifúngicas, lo que los convierte en un componente bioactivo clave (39).

### **2.2.3 Aceite esencial**

Los aceites esenciales son productos aromáticos volátiles obtenidos de diversas especies vegetales. Estos aceites se encuentran en frutos, flores, semillas, madera, hojas, raíces, cortezas y, en ocasiones, están presentes en toda la extensión de la planta. Los aceites esenciales comprenden varios componentes, en su mayoría en estado líquido, pero también pueden comprender partículas sólidas. Son solubles en disolventes como el éter dietílico, el etanol y miscibles en aceites vegetales, ceras y grasas. Debido a su característica volátil, pueden extraerse fácilmente por distintas técnicas, en especial por el método de destilación al vapor (40).

### **2.2.4 Métodos de extracción de aceite esencial**

#### **Destilación por arrastre de vapor**

La destilación por arrastre de vapor es uno de los métodos más utilizados para la extracción de aceites esenciales, ya que permite la separación de materiales sensibles como aceites, resinas e hidrocarburos, que son insolubles en agua y pueden descomponerse cuando llegan a su punto de ebullición; sin embargo, los aceites esenciales contienen sustancias con puntos de ebullición de hasta 200 °C, pero en presencia de vapor o agua hirviendo, estas sustancias se volatilizan solo con 100 °C. Este método ofrece múltiples ventajas sobre otras técnicas de extracción, entre las que destacan la obtención de productos libres de solventes, la ausencia de procesos adicionales de separación y la posibilidad de operar con volúmenes pequeños o grandes. Además, no suele provocar la descomposición del producto y el equipo necesario es relativamente económico (41) (42).

### **Prensado en frío**

El prensado en frío es un proceso físico que consisten en triturar la materia vegetal para liberar el aceite, generando una emulsión acuosa que luego se separa mediante centrifugación. Su característica principal es que no emplea calor durante el proceso, lo que preserva las propiedades sensibles al calor de los aceites. Este método es comúnmente utilizado para la extracción de aceites de frutos cítricos (43).

### **Hidrodestilación**

En la hidrodestilación, el aceite esencial se extrae llevando a ebullición el material vegetal seco en presencia de agua. A altas temperaturas, los componentes aromáticos volátiles contenidos en las células vegetales se liberan y forman una mezcla bifásica (oleosa y acuosa). Esta mezcla se condensa mediante enfriamiento indirecto con agua y luego se separa por decantación para aislar el aceite esencial (44).

### **Extracción supercrítica**

La extracción supercrítica utiliza un solvente, como el dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ), en estado supercrítico (es decir, a temperaturas y presiones superiores a su punto crítico) para extraer sustancias volátiles. Este método es más rápido que los convencionales, además destaca por su eficiencia y calidad del producto, estas características hacen que esta técnica sea una opción interesante para ciertas aplicaciones (43).

### **Extracción por solventes**

La extracción por solventes es un método usado principalmente para obtener aceites esenciales de plantas con partes sensibles al calor, como las flores. Se utiliza un solvente, como etanol, benceno, dimetilo o hexano, para disolver los compuestos oleosos presentes en la muestra vegetal. Posteriormente, el solvente se evapora, dejando únicamente el

aceite esencial. Este método es eficaz para extraer aceites de plantas térmicamente lábiles (45).

### **2.2.5 Extracto alcohólico**

Los extractos alcohólicos se obtienen mediante la disolución de los componentes de interés en un solvente adecuado, que varía según la planta, la parte de la planta utilizada y la naturaleza de los compuestos bioactivos a extraer (46). El solvente debe penetrar en el material vegetal para disolver los solutos y luego facilitar su difusión fuera de este. Cuanto más fina sea la partícula vegetal, mayor será la eficiencia del proceso de extracción, debido a la mejor penetración del solvente y la mayor difusión de los compuestos (47).

### **2.2.6 Métodos de obtención de extractos**

#### **Maceración**

La maceración es un método sencillo de extracción que consiste en sumergir el material vegetal seco en un solvente dentro de un recipiente, asegurándose de que quede completamente cubierto. Esta mezcla se deja reposar durante al menos tres días, con agitación periódica para facilitar la extracción. Al finalizar el proceso, se separa el orujo por filtración o decantación, generando dos productos, el sólido, libre de compuestos y el líquido, que sería el extracto propiamente dicho (46). Los solventes más utilizados en este método son etanol o metanol, considerados como solventes universales (47). Las principales ventajas de la maceración incluyen la simplicidad del equipo requerido y la conservación de los biocompuestos al realizarse en frío, lo que minimiza la degradación térmica (48).

### **Infusión**

La infusión es un proceso similar a la maceración, pero de duración más breve. En este caso, el material vegetal se muele finamente y se mezcla en el solvente durante un corto período de tiempo (5 a 10 minutos). Este método es especialmente adecuado para la extracción de compuestos que son fácilmente solubles en el solvente utilizado (46).

### **Digestión**

La digestión es una variante de la maceración que aplica calor moderado, entre 40 y 60°C durante el proceso de extracción. El material vegetal pulverizado y el solvente se mezclan y se calientan, generalmente en un baño de agua o en un horno. El uso de calor disminuye la viscosidad del solvente, facilitando la disolución y eliminación de metabolitos secundarios presentes en la planta (46).

### **Percolación**

La percolación es un método dinámico de extracción que se realiza en un percolador, un recipiente de vidrio cónico con aberturas en ambos extremos. El material vegetal seco y molido se mezcla previamente con el solvente y se deja reposar durante 4 horas en un recipiente limpio antes de transferirlo al percolador, donde se mantiene cerrado por la parte inferior durante 24 horas. Posteriormente, el solvente se introduce desde la parte superior, saturando el material vegetal por completo, y se abre la salida inferior para que el líquido gotee lentamente, impulsado por la fuerza gravitatoria. El extracto final se obtiene por filtración y decantación del líquido que ha pasado por el material vegetal (46).

### **2.2.7 *Trichophyton rubrum***

*Trichophyton* es uno de los tres géneros más frecuentes responsables de causar dermatofitosis en humanos (49), *T. rubrum* tiene la capacidad de colonizar tejidos queratinizados, como la capa córnea de la piel, las uñas y el cabello. Su identificación puede llevarse a cabo mediante el análisis de sus características morfológicas y fisiológicas. (50).

#### **Taxonomía**

Dominio: Eukarya

Reino: Fungi

Phylum: Ascomycota

Clase: Euascomycetes

Orden: Onygenales

Familia: Arthrodermataceae

Género: *Trichophyton*

Especie: *Trichophyton rubrum*

#### **Características macroscópicas**

*T. rubrum* crece en la mayoría de los medios de cultivo. Puede formar dos tipos de colonias: unas de color rojizo por ambos lados y otras de color blanco con reverso rojizo; estas últimas, tienen un aspecto inicial veloso que se va transformando en aterciopelado o algodónoso, así mismo los bordes suelen ser desflecados a causa de las prolongaciones radiales del micelio aéreo que presentan (51).

## **Características microscópicas**

Microscópicamente, *T. rubrum* es un hongo filamentoso con abundantes hifas. Se observan microconidios sésiles, de forma piriforme, agrupados en racimos. Los macroconidios son escasos y presentan septos irregulares en el extremo de las hifas. También se observa la ausencia de filamentos espirales y la presencia de hifas en forma de raqueta (51).

### **2.2.8 Mecanismo de infección**

#### **Adhesión**

La adherencia de las esporas de este dermatofito a la epidermis, esta mediada por las adhesinas fúngicas que se expresan en la superficie de sus microconidios y la interacción que existe entre ellas y los receptores de la célula hospedera; las moléculas implicadas incluyen el gen *sowgp* y la dipeptidil-peptidasa IV, a este proceso le sigue la germinación de arthroconidios, en donde se da la invasión al estrato córneo por hifas en crecimiento, este proceso se lleva a cabo en un periodo de tiempo de 3 a 4 horas (52)(53).

#### **Invasión**

Tras la adhesión a las células hospederas, las hifas comienzan una expansión de manera transversal y longitudinal; sin embargo, para poder colonizar a las células se necesita la reducción de los puentes de disulfuro que componen a los tejidos queratinizados, para ello el gen *Ssu1* codifica a una bomba de flujo de sulfito que logra la lisis de las proteínas que componen los tejidos queratinizados, permitiendo el paso micótico. Como resultado de este proceso, se liberan aminoácidos, dipéptidos y tripéptidos, que sirven como fuente nutricional para la supervivencia del hongo (53).

## **Patología**

Las infecciones cutáneas causadas por *T. rubrum* son las más comunes a nivel global, con una alta prevalencia y opciones de tratamiento limitadas (54). El desarrollo y la extensión de la infección dependen de varios factores como, la virulencia del hongo, la resistencia del huésped y las condiciones microambientales que favorecen o no su crecimiento. Este microorganismo puede causar problemas de dermatofitosis, también conocidas como tiñas, que pueden afectar el cuero cabelludo, las manos, los pies, la ingle y, principalmente, las uñas (55).

### **2.2.9 Tinea ungueal u onicomycosis dermatofítica**

La onicomycosis es una de las infecciones más comunes que afectan las uñas, siendo causada en su mayoría por dermatofitos, con *T. rubrum* como el principal agente infeccioso. En esta patología, las esporas colonizan inicialmente el borde libre de la uña, propagándose progresivamente (56)(55). Esta enfermedad tiene mayor incidencia en personas adultas, sin embargo, se puede observar lesiones en adolescentes y niños. Los síntomas característicos incluyen un engrosamiento de la placa ungueal, acompañado de hiperqueratosis subungueal, decoloración blanquecina o marrón-amarillenta, y onicólisis (separación de la uña del lecho ungueal) (57).

## **Clasificación**

### **~ Onicomycosis subungueal lateral distal**

Es el tipo más frecuente de onicomycosis. Se caracteriza por la presencia de hiperqueratosis subungueal, onicólisis distal (separación de la uña), engrosamiento de la lámina ungueal y una decoloración que varía de amarillo a marrón (58).

~ **Onicomycosis superficial**

Los organismos infecciosos invaden la superficie de la uña, manifestándose como manchas blancas superficiales, aunque en casos raros pueden observarse manchas negras. Este tipo de onicomycosis es más prevalente en pacientes inmunodeprimidos, especialmente en aquellos con VIH (58).

~ **Onicomycosis subungueal proximal**

El hongo invade la uña desde la superficie inferior del pliegue ungueal proximal y progresa distalmente. Se observan parches difusos o un patrón estriado transversal en la uña afectada (58).

~ **Onicomycosis distrófica total**

Es la fase avanzada de la onicomycosis, en la que la placa ungueal se encuentra completamente dañada y severamente distrófica (58).

## **2.2.10 Otras infecciones dermatofíticas**

### **Tinea manuum**

La tinea manuum o tiña de las manos afecta generalmente una sola mano, aunque en algunos casos ambas pueden verse comprometidas. Se manifiesta en la palma y los espacios interdigitales. Existen dos variantes: una inflamatoria, con vesículas, y otra seca, que se presenta con anhidrosis (sequedad) y descamación (59).

### **Tinea corporis**

Esta infección fúngica afecta la piel sin vello, causando respuestas tóxicas y alérgicas debido a los metabolitos del hongo. Se presenta como lesiones anulares, eritematosas,

pustulosas o verrugosas. Los bordes de las lesiones pueden mostrar pústulas y, con el tiempo, la piel afectada puede presentar hipopigmentación o hiperpigmentación posinflamatoria (55)(60).

### **Tinea capitis**

Afecta el cuero cabelludo, principalmente en niños, y suele desaparecer en la pubertad. El hongo infecta el estrato córneo del cuero cabelludo, y si invade un folículo piloso, puede penetrar en la parte muerta del cabello, causando su debilitamiento (55).

### **Tinea pedis**

También conocida como pie de atleta, la tinea pedis es más común en hombres que en mujeres y rara en niños. Suele manifestarse en estaciones cálidas. Se clasifica en tres formas clínicas: la forma interdigital, la hiperqueratósica descamativa y las erupciones vesiculo-ampollosas inflamatorias (55).

#### **2.2.11 Tratamiento**

Existen diferentes opciones de tratamiento para la onicomicosis, antimicóticos orales como la terbinafina y el itraconazol y antimicóticos tópicos como la ciclopiroxolamina, amorolfina, y efinaconazol. Generalmente, los antimicóticos orales son la primera opción por sus altas tasas de éxito; sin embargo, pueden estar asociados con enfermedades hepáticas crónicas, insuficiencia cardíaca y disfunción renal. Además, pueden interferir con otros fármacos ocasionando efectos adversos graves. Estas complicaciones han llevado a un mayor interés en las terapias tópicas, ya que tiene mayor facilidad de aplicación y menor riesgo para el paciente, aun así, también presentan limitaciones, como tasas de curación bajas y mayor duración requerida del tratamiento (61).

## **2.3 Definición de términos básicos**

### **Aceite esencial**

Es una mezcla de sustancias volátiles y aromáticas presentes en plantas, que pueden ser extraídas mediante destilación al vapor. Químicamente, los aceites esenciales están compuestos por metabolitos secundarios de las plantas, como terpenos y fenoles, que les confieren sus propiedades aromáticas y bioactivas (1).

### **Extracto alcohólico**

Es un preparado concentrado derivado de material vegetal, que puede tener consistencia líquida, semisólida o sólida. Se obtiene mediante la extracción de compuestos bioactivos utilizando etanol como solvente, lo que permite aislar tanto los componentes polares como algunos no polares de las plantas (2).

### **Itraconazol**

Es un antimicótico sintético perteneciente a la clase de los triazoles, caracterizado por su amplio espectro de actividad antifúngica. Su mecanismo de acción consiste en la inhibición de la síntesis de ergosterol, un componente esencial de la membrana celular fúngica, lo que altera la función y la permeabilidad de la célula, causando la muerte del hongo (3).

### **Concentración mínima inhibitoria antifúngica (CMIA)**

Se refiere a la menor concentración de un antifúngico que es capaz de inhibir el crecimiento visible de hongos en una prueba de laboratorio. La CMIA es un indicador clave para evaluar la efectividad de un tratamiento antifúngico (4).

## CAPÍTULO III

### DISEÑO DE LA CONTRASTACIÓN DE LA HIPÓTESIS

#### 3.1 Diseño de la Investigación

La presente investigación es de tipo básico y de diseño cuasi experimental.

#### 3.2 Material biológico

- ~ Aislamientos de *Trichophyton rubrum* provenientes de muestras clínicas de pacientes con onicomicosis, obtenidas en los Laboratorios de Microbiología de la Red Asistencial de ESSALUD y del Hospital Regional de Cajamarca (Apéndice N°1).
- ~ Cepa de referencia de *Trichophyton rubrum* ATCC 28188, utilizada como control para garantizar la validez de los resultados.
- ~ Hojas de *Hyptis eriocephala*, colectadas en el centro poblado Yumagual, distrito de San Juan, provincia de Cajamarca ubicado a una altitud de 2610 m.s.n.m., con coordenadas UTM 17S 775601 9197457.

#### 3.3 Procedimiento

##### 3.3.1 Identificación taxonómica de *H. eriocephala*

Se colectó el ejemplar completo de *H. eriocephala*, y se trasladó al herbario “Isidoro Sánchez Vega” de la Universidad Nacional de Cajamarca para su correcta identificación taxonómica (Anexo N°1) (Apéndice N°2).

### **3.3.2 Colección de la muestra vegetal**

Una vez concluida la identificación taxonómica, se procedió a la colección de las hojas de *Hyptis eriocephala* en horas de la mañana. En total, se recolectaron aproximadamente 12 kg de hojas frescas, las cuales fueron envueltas en papel kraft y transportadas en bolsas de polipropileno (Apéndice N°3).

### **3.3.3 Selección y desinfección de la muestra vegetal**

El material recolectado fue sometido a un proceso de selección, durante el cual se eliminaron sustancias extrañas, insectos y cualquier hoja con daños físicos. Luego, las hojas fueron desinfectadas utilizando una solución de hipoclorito de sodio al 10 % v/v. Posteriormente, se procedió al secado en sombra sobre papel kraft para reducir la humedad y evitar la volatilización de fitoconstituyentes. Este proceso duró aproximadamente 5 días (Apéndice N°4).

### **3.3.4 Obtención de extracto alcohólico**

Se pesaron 500 g de hojas secas de *Hyptis eriocephala*, que previamente habían sido sometidas a secado en una estufa a 40 °C por 1 hora.

Las hojas secas se pulverizaron en un mortero y luego se colocaron en un frasco de vidrio color ámbar. Posteriormente, se añadió etanol al 96 % en una proporción de 1:10 p/v. La maceración se llevó a cabo durante una semana a temperatura ambiente.

Una vez transcurrido este periodo, el macerado fue filtrado utilizando papel de filtro y algodón, obteniéndose 600 mL de extracto. Para separar el alcohol, se utilizó un rotavapor ajustado a 70 revoluciones por minuto, a una temperatura de 40 °C, durante 90 minutos. Se procesaron 100 mL de extracto, obteniéndose finalmente 70 mL, los

cuales fueron almacenados en un frasco de vidrio ámbar y refrigerado a 4 °C hasta su uso posterior (12) (Apéndice N° 5).

### **3.3.5 Obtención del aceite esencial**

El resto de hojas seleccionadas de *Hyptis eriocephala* fueron colocadas en el recipiente del sistema de destilación por arrastre de vapor. El proceso de extracción del aceite esencial se llevó a cabo durante 4 horas y se repitió en tres ocasiones, obteniendo aproximadamente 4 mL de aceite esencial. Este aceite presentaba una apariencia traslúcida y amarillenta, con una densidad menor que el agua. Una vez extraído, el aceite se almacenó en un recipiente de vidrio ámbar y se refrigeró a 4 °C hasta su uso posterior (62) (Apéndice N°6).

### **3.3.6 Reactivación de la cepa *T. rubrum* ATCC™ 28188™**

La reactivación de la cepa de referencia *T. rubrum* ATCC™ 28188™ se realizó en agar Saboraud y se incubó durante una semana a temperatura ambiente (Apéndice N°7).

### **3.3.7 Confirmación de aislamientos clínicos de *T. rubrum***

Para la confirmación de los aislamientos de *T. rubrum* procedentes de muestras clínicas, solo se seleccionaron aquellos que presentaban el característico pigmento rojizo, principal indicador macroscópico de este dermatofito. Los aislamientos fueron sembrados en placas de agar Sabouraud. Después de un periodo de incubación de 5 semanas, se observaron sus características morfológicas de forma macroscópica. Posteriormente, se realizaron microcultivos utilizando fragmentos de aproximadamente 0,5 cm<sup>2</sup> de agar Saboraud, que se colocaron en el centro de un

portaobjetos suspendido en un soporte, evitando el contacto con el agua destilada, elemento importante para mantener la hidratación del cultivo. Después de realizar el montaje del agar, se recolectaron propágulos de cultivo fúngico con un asa en punta, y se sembraron utilizando la técnica de punción; luego, el agar se cubrió con un cubre objetos para asegurar la adherencia de las estructuras de interés. Este procedimiento se replicó con los demás aislamientos, así como con la cepa ATCC. El crecimiento se evidenció después de 18 días, en donde utilizando el cubre objetos se preparó una tinción con lactofenol para su observación al microscopio, presenciando abundantes hifas y microconidios piriformes en racimo (Apéndice N°8).

### **3.3.8 Determinación del efecto antifúngico mediante el método de dilución en agar**

Para la evaluación del efecto antifúngico, como control positivo se empleó itraconazol (100 mg), mientras que el agua destilada estéril sirvió como control negativo y se probaron las concentraciones de 2 %, 1 % y 0,5 % v/v del aceite esencial y del extracto alcohólico de *Hyptis eriocephala* (63) (64).

### **3.3.9 Preparación del medio de cultivo**

Se prepararon placas Petri con 10 mL de agar Sabouraud, a las cuales se les adicionaron 200  $\mu$ L del aceite esencial para obtener una concentración final del 2 %, 100  $\mu$ L para una concentración de 1 %, y 50  $\mu$ L para la concentración de 0,5 %, evitando la formación de burbujas. Este procedimiento fue replicado con el extracto alcohólico (Apéndice N°9).

### **3.3.10 Siembra de *T. rubrum***

La siembra de *T. rubrum* (aislamientos clínicos y cepa de referencia ATCC 28188) se realizó mediante el método de punción en las placas de agar ya solidificadas. Las placas fueron incubadas a temperatura ambiente durante 5 semanas. Posteriormente, se evaluó el crecimiento o la inhibición del dermatofito para determinar la Concentración Mínima Inhibitoria Antifúngica (CMIA). Todos los ensayos fueron realizados por duplicado, y los datos obtenidos fueron registrados en una ficha diseñada para tal fin (Apéndice N°10).

### **3.4 Técnicas e Instrumentos de recolección de datos**

La técnica utilizada para la recolección de datos fue la observación de los resultados. Como instrumento de recolección, se empleó una ficha de registro, diseñada específicamente para documentar el crecimiento o inhibición de *T. rubrum* bajo diferentes concentraciones del extracto alcohólico y el aceite esencial de *H. eriocephala*. Esta ficha permitió sistematizar y organizar los datos de manera precisa para su posterior análisis (Apéndice N°11).

### **3.5 Técnicas de Procesamiento y Análisis de Datos**

Los datos fueron ingresados y procesados en una base de datos del software estadístico IBM SPSS Statistics versión 26. Para evaluar la asociación entre las concentraciones de aceite y el efecto inhibitorio se aplicó la prueba de chi-cuadrado, complementándose con la prueba exacta de Fisher y la prueba de Monte Carlo debido a la presencia de celdas con recuentos esperados bajos. Se trabajó con un nivel de significancia estadística  $p \leq 0,05$ .

## CAPÍTULO IV

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 4.1 Resultados

##### 4.1.1 Evaluación del efecto antifúngico

###### ***Aceite esencial de H. eriocephala***

Se evaluó la inhibición del crecimiento de *T. rubrum* mediante el uso de aceite esencial de *H. eriocephala* a concentraciones de 2%, 1% y 0,5%. El estudio incluyó 5 aislamientos clínicos (001 - 005) y la cepa de referencia (ATCC). Como control positivo, se empleó itraconazol de 100 mg, mientras que el agua destilada estéril sirvió como testigo. Después de cinco semanas de incubación, se observó inhibición del crecimiento en todos los aislamientos clínicos, independientemente de la concentración del aceite esencial (Tabla 1, Figura 1).

Con respecto a la cepa ATCC, la concentración del aceite esencial al 2% mostró un efecto inhibitorio notable, mientras que la concentración del 1% presentó un efecto inhibitorio menor, y la concentración del 0,5% no mostró efecto inhibitorio *in vitro* (Figura 2, Apéndice N° 12). No se observó asociación significativa ( $p > 0,05$ ) entre las concentraciones del aceite esencial y la inhibición del crecimiento en todos los aislamientos de *T. rubrum*.

Tabla 1. Inhibición del crecimiento de *T. rubrum* frente a diferentes concentraciones del aceite esencial de *H. eriocephala* y el itraconazol.

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

p > 0,05, estimación de Monte Carlo

AE: Aceite esencial de *H. eriocephala* ITZ: Itraconazol (100 mg) AD: Agua destilada

(+): Inhibición de crecimiento

(-): Sin inhibición de crecimiento

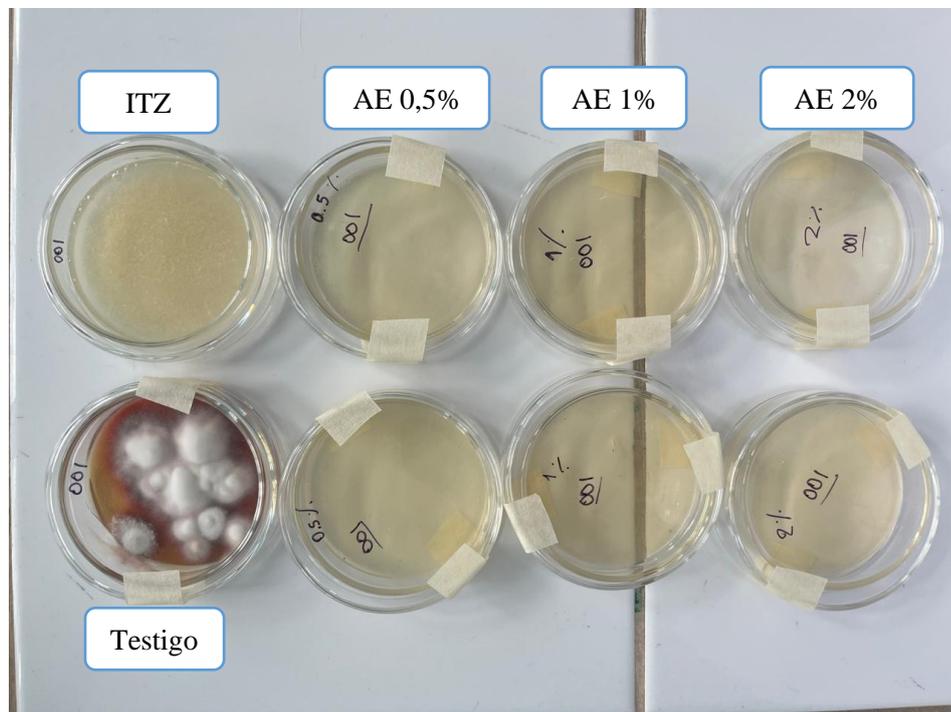


Figura 1. Efecto inhibitorio del aceite esencial de *H. eriocephala* a diferentes concentraciones sobre el aislamiento *T. rubrum* 001.

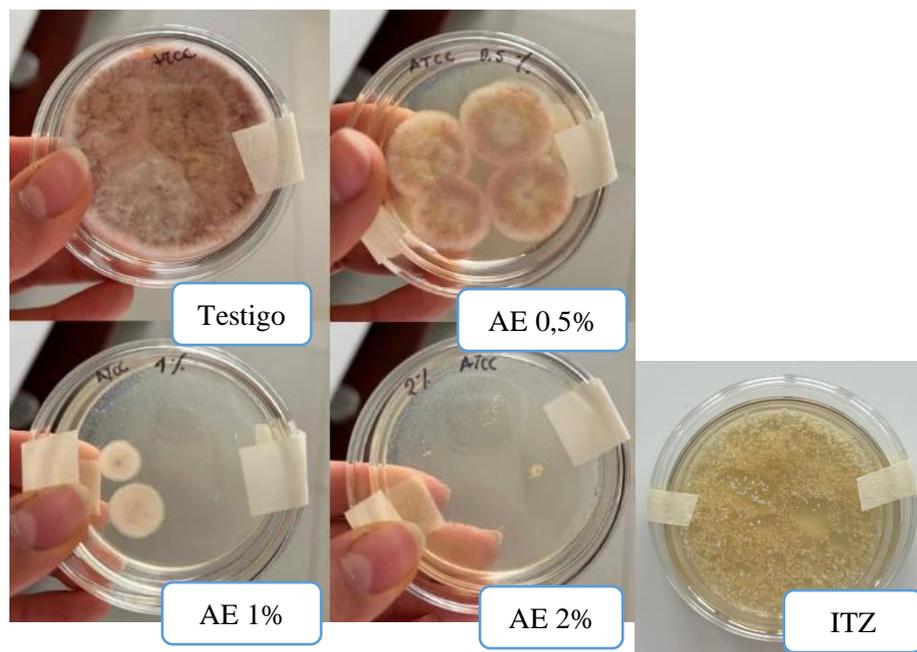


Figura 2. Efecto del aceite esencial de *H. eriocephala* a diferentes concentraciones sobre la cepa *T. rubrum* ATCC 28188.

#### **Extracto alcohólico de *H. eriocephala***

No se observó inhibición del crecimiento de *T. rubrum* en ninguno de los aislamientos clínicos (001 – 005) ni en la cepa de referencia (ATCC) cuando se utilizó el extracto alcohólico de *H. eriocephala*, independientemente de la concentración evaluada (2%, 1%, y 0,5%). En todas las pruebas realizadas, el crecimiento del hongo no fue afectado por el extracto en ninguna de las concentraciones probadas. Por el contrario, el itraconazol provocó una inhibición completa del crecimiento en todas las cepas clínicas, mientras que el control negativo (agua destilada) no mostró ningún efecto inhibitorio (Figuras 3 y 4) (Tabla 2, Apéndice N° 13).

Tabla 2. Inhibición del crecimiento de *T. rubrum* frente a diferentes concentraciones del extracto alcohólico de *H. eriocephala* y el itraconazol.

Código de aislamiento				ITZ	AD
	EA 2%	EA 1%	EA 0,5%	(control positivo)	(testigo)
ATCC	-	-	-	+	-
001	-	-	-	+	-
002	-	-	-	+	-
003	-	-	-	+	-
004	-	-	-	+	-
005	-	-	-	+	-

EA: Extracto alcohólico de *H. eriocephala* ITZ: Itraconazol (100 mg) AD: Agua destilada  
 (+): Inhibición de crecimiento  
 (-): Sin inhibición de crecimiento

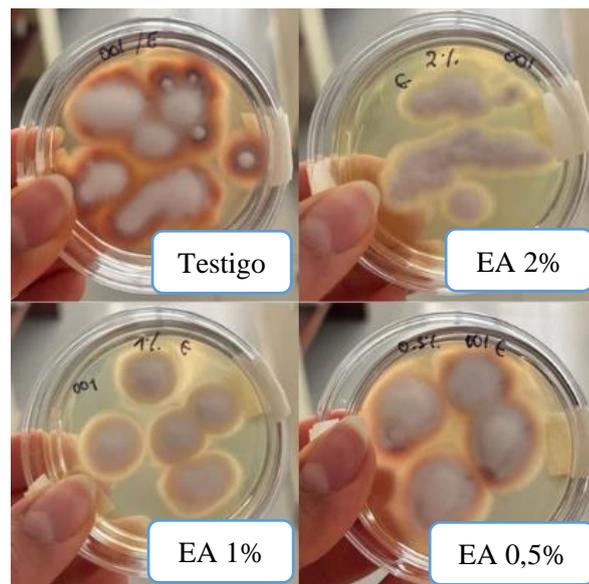


Figura 3. Efecto del extracto alcohólico de *H. eriocephala* a diferentes concentraciones sobre el aislamiento de *T. rubrum* 001.

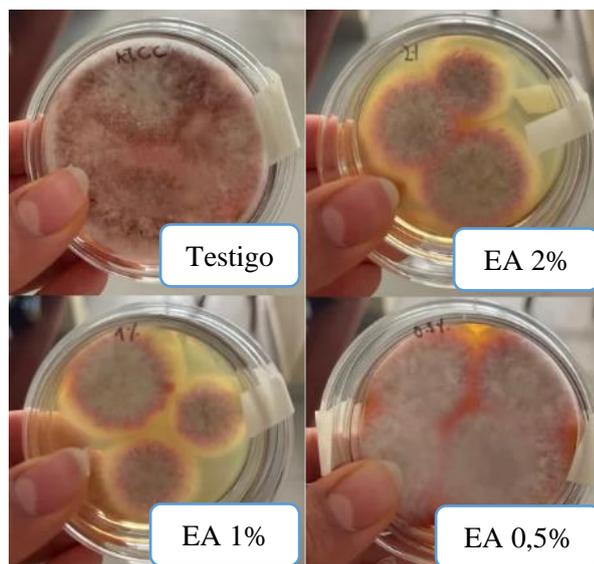


Figura 4. Efecto del extracto alcohólico de *H. eriocephala* a diferentes concentraciones sobre la cepa *T. rubrum* ATCC 28188.

## 4.2 Discusión

La medicina natural o tradicional sigue siendo un componente fundamental de los sistemas de salud, especialmente en los países en desarrollo, y también como complemento en contextos donde prevalece el uso de la medicina convencional. Actualmente, este tipo de medicina se considera como una terapia suave y no invasiva, con beneficios terapéuticos comprobados para el tratamiento de diversas afecciones, incluidas enfermedades crónicas, lo cual se atribuye a la amplia variedad de fitoconstituyentes presentes en las plantas medicinales (5). Dentro de este contexto, el género *Hyptis* de la familia Lamiaceae se ha destacado por sus propiedades medicinales (11)(12)(13); sin embargo, es importante resaltar que la literatura científica no ofrece investigaciones específicas sobre la actividad antifúngica de *Hyptis eriocephala* Benth. Por ello, los resultados obtenidos en el presente estudio se han comparado con investigaciones de otras especies más estudiadas del género *Hyptis*.

En cuanto a la obtención del aceite esencial, el rendimiento de extracción del aceite de *H. eriocephala* fue del 0,3%, valor similar al reportado por Hernández (65) , en su investigación sobre la caracterización y actividad antimicrobiana del aceite esencial de *H. melissoides*, extraído mediante arrastre de vapor. El aceite obtenido en el presente estudio tenía las características habituales: un tono amarillo translúcido y un olor característico, indicadores de su alta pureza; además, su densidad era inferior a la del agua, lo cual se comprobó durante el proceso de destilación, ya que el aceite se situaba en la parte superior de la pera de decantación. El extracto alcohólico obtenido mostró el color verdoso característico, que se intensificó tras el uso del rotavapor, y el olor sui generis, además de la ausencia de partículas, indicios que corroboran un proceso adecuado de maceración y filtración. Estas características fueron similares a las descritas por Briceño (12), quien utilizó la misma especie vegetal en su estudio.

Para la evaluación del efecto antimicótico, se utilizó la técnica de dilución en agar, considerada idónea para evaluar el crecimiento de dermatofitos debido a su lento desarrollo. Este método se comparó con la técnica de difusión en agar con disco, que presentó limitaciones relacionadas con la composición del papel filtro Whatman. Los hidroxilos libres en la superficie del filtro lo hacen hidrofílico, lo que afecta la interacción con ciertos compuestos de los extractos naturales e impide una correcta difusión (66). La técnica de difusión en agar con pozo también fue descartada, ya que el aceite esencial, rico en compuestos orgánicos volátiles, presenta características que dificultan su aplicación, tal como lo reportó Ríos en su estudio sobre la composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial de *H. suaveolens* (62).

Mediante el método de dilución en agar con el aceite esencial, se observó una inhibición total del crecimiento de los aislamientos clínicos de *T. rubrum* a concentraciones del 2%, 1% y 0,5%. Este notable efecto antifúngico puede atribuirse a la presencia de diversos compuestos químicos en el aceite esencial, entre los cuales se destacan los alcaloides, fenoles, taninos, lactonas y triterpenos. Estos compuestos han demostrado poseer propiedades antimicóticas, como lo describe Briceño (12), así como en los aceites esenciales de otras especies del mismo género, como *H. lanceolata* y *H. spicigera* (18)(19).

En cuanto a los alcaloides, estos pueden alterar el transporte de iones y, en consecuencia, la estabilidad de la membrana fúngica (33). Los fenoles, por su parte, inactivan los sistemas enzimáticos fúngicos que son esenciales para la producción de energía y la síntesis de componentes estructurales, contribuyendo así a la muerte celular (34). Los taninos tienen la capacidad de unirse irreversiblemente a las proteínas de la membrana fúngica mediante grupos amino, lo que potencia su efectividad antimicótica (36). Además, las lactonas y los triterpenos son compuestos fitoquímicos con propiedades antimicóticas comprobadas (18)(19). Los resultados obtenidos en el presente estudio son comparables a los reportados por Oliveira y colaboradores (11), quienes utilizaron el aceite esencial de *H. ovalifolia* frente a dermatofitos como *Microsporum canis*, *M. gypseum*, *T. rubrum* y *T. mentagrophytes*, demostrando una inhibición al 100 %. Estos hallazgos subrayan el potencial del aceite esencial de *H. eriocephala* como un tratamiento efectivo contra infecciones fúngicas como las onicomicosis.

Con respecto a los resultados obtenidos con la cepa ATCC 28188, donde no se observó efecto inhibitorio en ninguna de las concentraciones evaluadas, en contraste con los

aislamientos clínicos, se puede inferir que esta diferencia radica en la estabilidad de las propiedades fenotípicas y fisiológicas de la cepa de referencia de tipo nomenclatural (67), al ser la primera cepa de una especie identificada, suele presentar menor variabilidad genética (68). Por el contrario, los aislamientos clínicos, aunque pertenecen a la misma especie, pueden mostrar una mayor diversidad genética, lo que los hace más o menos susceptibles a los compuestos fitoquímicos (69).

Es importante destacar que, aunque el aceite esencial de *H. eriocephala* mostró un efecto exitoso frente a los aislamientos clínicos de *T. rubrum*, el extracto alcohólico de la misma planta no presentó actividad inhibidora, ya que en todas las concentraciones evaluadas se observó el crecimiento de este dermatofito. Esto podría deberse a factores como la concentración del extracto o la naturaleza del solvente utilizado. Sin embargo, Adamu y colaboradores (18) utilizaron el extracto acuoso de *H. spicigera* frente a hongos patógenos como *Aspergillus parasiticus*, *A. fumigates*, *Fusarium proliferatum* y *F. oxysporum*, demostrando actividad antifúngica, la cual podría atribuirse a la concentración de alcaloides, flavonoides y taninos presentes. Por otro lado, Salvial (19) evaluó el extracto crudo de *H. lanceolata* frente a *Candida albicans*, *C. tropicalis*, *C. krusei* y *C. parapsilosis*, obteniendo resultados positivos solo en estas dos últimas especies, además logró constatar la presencia de flavonoides y terpenos en esta especie vegetal.

En cuanto a las limitaciones de este estudio, la escasez de investigaciones previas sobre *H. eriocephala* limitó la posibilidad de realizar comparaciones bibliográficas más detalladas y profundas. Además, la colecta de la muestra vegetal tuvo que ser realizada en meses específicos para garantizar la obtención de hojas frescas en cantidad suficiente

y de calidad óptima. Otra limitación fue la disponibilidad restringida de aislamientos de *T. rubrum* en los laboratorios clínicos, lo que redujo el tamaño de la muestra a solo cinco aislamientos. Finalmente, el proceso de extracción del aceite esencial presentó dificultades debido al volumen necesario para el estudio, lo que requirió múltiples corridas en el equipo de destilación para optimizar el rendimiento y comprender mejor el comportamiento de la muestra vegetal.

## CAPÍTULO V

### CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### 5.1 Conclusiones

- ~ El aceite esencial de *Hyptis eriocephala* mostró un efecto inhibitorio *in vitro* sobre el crecimiento de aislamientos clínicos de *T. rubrum* a concentraciones de 2%, 1% y 0,5%.
- ~ La concentración mínima inhibitoria para el aceite esencial de *H. eriocephala* fue de 0,5% sobre el crecimiento de *T. rubrum*.
- ~ El extracto alcohólico de *H. eriocephala* no mostró actividad inhibidora *in vitro* sobre el crecimiento de los aislamientos clínicos de *T. rubrum*.

#### 5.2 Recomendaciones

- ~ Emplear métodos alternativos de extracción de aceites esenciales con el fin de optimizar la obtención del aceite esencial de *H. eriocephala* en mayores cantidades.
- ~ Evaluar el efecto antimicótico de otros tipos de extractos de *H. eriocephala*, dado que el extracto alcohólico no mostró efecto inhibitorio.
- ~ Identificar y cuantificar los compuestos fitoquímicos presentes en el aceite esencial de *H. eriocephala*.
- ~ Realizar estudios *in vivo* para evaluar el efecto terapéutico del aceite esencial de *H. eriocephala*.

## LISTA DE REFERENCIAS

1. Ríos J. Essential oils: What they are and how the terms are used and defined [Internet]. Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety. Elsevier Inc.; 2016. 3–10 p. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-416641-7.00001-8>
2. Carrión A, García C. "Preparación De Extractos Vegetales: Determinación De Eficiencia De Metódica" [Internet]. Universidad de Cuenca; 2010. Available from: <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/2483/1/tq1005.pdf>
3. Carranza R. Itraconazol: Antimicóticos. In: Vademécum Académico de Medicamentos [Internet]. New York, NY: McGraw-Hill Education; 2015. Available from: <https://accessmedicina.mhmedical.com/content.aspx?bookid=1552&sectionid=90371715>
4. IDEXX Laboratories. Guía microbiológica para interpretar la concentración mínima inhibitoria (CMI). 2018; Available from: <https://www.idexx.es/files/mic-guía-microbiológica-es.pdf>
5. Organización Panamericana de la Salud. Situación de las plantas medicinales en Perú [Internet]. Instituto Nacional De Salud. 2019. p. 13. Available from: [https://iris.paho.org/bitstream/handle/10665.2/50479/OPSPER19001\\_spa.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://iris.paho.org/bitstream/handle/10665.2/50479/OPSPER19001_spa.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
6. Zulueta D. Conocimiento etnobotánico de las plantas medicinales del caserío Peña Blanca, distrito Tacabamba, Chota, Cajamarca. Universidad Nacional Autónoma de Chota; 2023.
7. Liñan G. Etnobotánica de plantas medicinales del centro poblado Araqueda, provincia de Cajabamba. Universidad Nacional de Cajamarca; 2022.

8. Moy B, Ortiz Y. Actividad antibacteriana frente a *Cutibacterium acnes* y antioxidante de los extractos hidroalcohólicos de las hojas, flores, tallo y raíz de *Hypericum silenoides* Juss “Canchalagua.” Universidad Norbet Wiener; 2020.
9. Ñontol L, Portal S. Actividad antimicótica in vitro del extracto hidroalcohólico de los tres colores de flor de *Tropaeolum majus* L. “Mastuerzo” en cepas de *Candida albicans*. Universidad Privada Antonio Guillermo Urrelo; 2018.
10. Chugden K, Vergara K. Efecto antibacteriano del extracto etanólico de propoleo de Cajamarca frente a colonias de *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 in vitro. Universidad Privada Antonio Guillermo Urrelo; 2018.
11. De Oliveira C, Silva M, Kato L, Da Silva C, Ferreira H, Souza L. Chemical composition and antifungal activity of the essential oil of *Hyptis ovalifolia* Benth. (Lamiaceae). *J Braz Chem Soc.* 2004;15(5):756–9.
12. Briceño R, Chávez J. Determinación del efecto de los extractos de *Hyptis eriocephala* Benth y *Piper umbellatum* L. sobre las biopelículas de *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis* [Internet]. Universidad Mayor de San Marcos; 2018. Available from: [https://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/20.500.12672/4082%0Ahttp://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/cybertesis/4147/Diaz\\_rc.pdf;jsessionid=CD5A7FF3022F1A5526948369A600356D?sequence=1](https://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/20.500.12672/4082%0Ahttp://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/cybertesis/4147/Diaz_rc.pdf;jsessionid=CD5A7FF3022F1A5526948369A600356D?sequence=1)
13. Sedano-Partida M, Pereira dos Santos K, Sala-Carvalho W, Silva-Luz C, Furlan C. Anti-HIV-1 and antibacterial potential of *Hyptis radicans* (Pohl) Harley & J.F.B. Pastore and *Hyptis multibracteata* Benth. (Lamiaceae). *J Herb Med* [Internet]. 2020;20. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.hermed.2019.100328>
14. Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo. *Trichophyton* spp. *Minist Trab y Econ Soc* [Internet]. 2013;4. Available from:

<https://www.insst.es/documents/94886/353749/Trichophyton+spp.pdf/26879351-3c30-4bb2-b7c9-48b5729bcb2a?version=1.0&t=1528734457010>

15. 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 Alcides Carrión, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú. *Rev Peru Med Trop.* 2014;75(2).
16. Huaripata P. Prevalencia de onicomicosis en pacientes atendidos en Microbiología del Hospital Regional Docente de Cajamarca de enero a diciembre del 2016 [Internet]. Universidad San Pedro; 2018. Available from: [http://repositorio.usanpedro.edu.pe/bitstream/handle/USANPEDRO/7765/Tesis\\_58639.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.usanpedro.edu.pe/bitstream/handle/USANPEDRO/7765/Tesis_58639.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
17. Azanza Perea JR. Anfotericina B liposomal: farmacología clínica, farmacocinética y farmacodinamia. *Rev Iberoam Micol.* 2021;38(2):52–5.
18. Adamu K, Adamu F, Ibrahim R, Rabilu A, Abdu A, Danazumi B. Antifungal and Phytochemical constituents of aqueous leaves extract of *Hyptis spicigera* on *Apergillus* and *Fusarium* species. *Trends Sci Technol J.* 2020;5(2):520–4.
19. Salvial A, Liliane J, Bavoua D, Tadjong A, Dongmo W, Tsopgni T, et al. Chemical constituents and antifungal effects of *Hyptis lanceolata* Poir . *J Pharmacogn Phytochem.* 2021;10(2):831–4.
20. Merma C, Tomaylla C, Del Carpio C. Anti-*Trichophyton rubrum* activity of the essential oil of *Clinopodium brevicalyx* and elaboration of a topical emulsion. *Rev Investig Altoandinas* [Internet]. 2020;22(2):182–90. Available from: <http://dx.doi.org/10.18271/ria.2020.606>
21. Aguilar R, Juep W. Determinación de la actividad antifúngica in vitro del extracto hidroalcohólico de las flores de *Tropaeolum majus* L. “mastuerzo” frente a

- Sporothrix schenckii. Universidad Privada Guillermo Urrelo; 2018.
22. Mendoza M, Monsalve F. Efecto antimicótico in vitro del aceite esencial de las hojas de *Salvia sagittata* “salvia azul” en cepas de *Sporothrix schenckii* [Internet]. Universidad Privada Guillermo Urrelo; 2017. Available from: <http://repositorio.upagu.edu.pe/bitstream/handle/UPAGU/675/TESIS-FINAL-JUNIO-2018..pdf?sequence=3&isAllowed=y>
  23. Mena Palacios C, Silva López B, Medina A. Composición Química y Actividad Biológica de los Aceites Esenciales de Lamiaceas, Asteraceas, Vervenaceas. *infoANALÍTICA*. 2020;8:48–69.
  24. Santa Cruz L. Flora de espermatofitas del distrito de Pulán, Santa Cruz- Cajamarca [Internet]. Universidad Mayor de San Marcos; 2011. Available from: <http://plantasdepulan.blogspot.com/2012/08/familia-rubiaceae.html>
  25. Sala-Carvalho W, Pereira dos Santos K, Sedano-Partida M, da Silva-Luz C, Pena M, Furlan C. Is *Hyptis lacustris* A. St.-Hil. ex Benth. (Lamiaceae) extract a good candidate for antibacterial uses? *Ind Crops Prod* [Internet]. 2019;133:26–32. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.02.054>
  26. Vilchez Cáceda HA, Rojas Berastein K, Olortegui Quispe AR, Alvia Saldarriaga CA. Antibacterial effect of two hydroalcoholic extracts of medicinal plants on *Streptococcus mutans*. *Rev Cuba Med Mil*. 2023;52(3).
  27. Sanchez-Aguirre O, Cruz-Navarro A, Guevara-Valencia M, Rengifo-Salgado E, Vargas-Arana G. Phytochemical screening, antioxidant activity and in vitro biological evaluation of leave extracts of *Hyptis suaveolens* (L.) poit. *South African J Bot* [Internet]. 2020;128:62–6. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2019.10.016>
  28. Barbosa AGR, Tintino CDMO, Pessoa RT, de Lacerda Neto LJ, Martins AOBPB,

- de Oliveira MRC, et al. Anti-inflammatory and antinociceptive effect of *Hyptis martiusii* Benth leaves essential oil. *Biotechnol Reports*. 2022;35.
29. Santos K, Matias E, Sobral-Souza C, Tintino S, Morais-Braga M, Guedes G, et al. Trypanocide, cytotoxic, and anti-Candida activities of natural products: *Hyptis martiusii* Benth. *Eur J Integr Med* [Internet]. 2013;5:427–31. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.eujim.2013.06.001>
30. Rocha J, Coutinho H, Saraiva C, Lucas dos Santos A, Machado A, Junior J, et al. HPLC-DAD analysis and antifungal effect of *Hyptis martiusii* Benth (Lamiaceae) against *Candida* strains. *Asian Pac J Trop Biomed*. 2019;9(3):123–8.
31. Roy A. A Review on the alkaloids an important therapeutic compound from plants. *Int J Plant Biotechnol*. 2017;3(2):9.
32. Barbieri R, Coppo E, Marchese A, Daglia M, Sobarzo-Sánchez E, Nabavi S. Phytochemicals for human disease: An update on plant derived compounds antibacterial activity. *Microbiol Res* [Internet]. 2017;196:44–68. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.micres.2016.12.003>
33. García-Hernández D, Rivas-Morales C, Leos-Rivas C. Actividad antifúngica. In: Rivas-Morales C, Oranday-Cárdenas M, Verde-Star M, editors. *Investigación en plantas de importancia médica* [Internet]. México: OmniaScience; 2016. p. 101–28. Available from: <https://www.omniascience.com/books/index.php/monographs/catalog/book/97>
34. Christ-Ribeiro A, Graça C, Kupski L, Badiale-Furlong E, De Souza-Soares L. Cytotoxicity, antifungal and anti mycotoxins effects of phenolic compounds from fermented rice bran and *Spirulina* sp. *Process Biochem* [Internet]. 2019;80:190–6. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2019.02.007>
35. Aldred E, Buck C, Vall K. Phenols. In: *Pharmacology* [Internet]. Churchill

- Livingstone; 2009. p. 149–66. Available from:  
[//www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780443068980000219](http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780443068980000219)
36. Pizzi A. Tannins medical / pharmacological and related applications: A critical review. *Sustain Chem Pharm* [Internet]. 2021;22(June):100481. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.scp.2021.100481>
  37. Gil S, Parra M, Rodriguez P, Segura J. Recent Developments in-Lactone Synthesis. *Mini Rev Org Chem*. 2009;6(4):345–58.
  38. Thimmappa R, Geisler K, Louveau T, O'Maille P, Osbourn A. Triterpene biosynthesis in plants. *Annu Rev Plant Biol*. 2014;65:225–57.
  39. Chudzik M, Korzonek-Szlacheta I, Król W. Triterpenes as potentially cytotoxic compounds. *Molecules*. 2015;20(1):1610–25.
  40. Naeem A, Abbas T, Mohsin T, Hasnain A. Essential oils: Brief background and uses. *Ann Short Reports*. 2018;1(1):1–3.
  41. Božović M, Navarra A, Garzoli S, Pepi F, Ragno R. Essential oils extraction: a 24-hour steam distillation systematic methodology. *Nat Prod Res* [Internet]. 2017 Oct 18;31(20):2387–96. Available from: <http://dx.doi.org/10.1080/14786419.2017.1309534>
  42. Galanakis CM. Conventional Extraction. In: *Food Waste Recovery: Processing Technologies and Industrial Techniques*. 2015. p. 127–44.
  43. Razola-Díaz M del C, Guerra-Hernández EJ, García-Villanova B, Verardo V. Recent developments in extraction and encapsulation techniques of orange essential oil. *Food Chem*. 2021;354(March).
  44. Gurpreet K, Kamalpreet K, Preeti S. Citrus essential oil. In: *Essential Oils*. 2023. p. 179–215.
  45. Stratakos A, Koidis A. Methods for extracting essential oils [Internet]. *Essential*

- Oils in Food Preservation, Flavor and Safety. Elsevier Inc.; 2016. 31–38 p.  
Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-416641-7.00004-3>
46. Abubakar A, Haque M. Preparation of medicinal plants: Basic extraction and fractionation procedures for experimental purposes. *J Pharm Bioallied Sci* [Internet]. 2020;12(1):1–12. Available from: [https://journals.lww.com/10.4103/jpbs.JPBS\\_175\\_19](https://journals.lww.com/10.4103/jpbs.JPBS_175_19)
  47. Zhang QW, Lin LG, Ye WC. Techniques for extraction and isolation of natural products: A comprehensive review. *Chin Med* [Internet]. 2018;13(1):1–26. Available from: <https://doi.org/10.1186/s13020-018-0177-x>
  48. Rashid S, Rafiyya L, Majeed B, Nisar H, Nisar A, Ahmad B, et al. Phytomedicines: Diversity, extraction, and conservation strategies. In: *Phytomedicine*. Academic Press; 2021. p. 1–33.
  49. Molina De Diego A. Aspectos clínicos, diagnósticos y terapéuticos de las dermatofitosis. *Enferm Infecc Microbiol Clin* [Internet]. 2011;29:33–9. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S0213-005X\(11\)70025-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0213-005X(11)70025-8)
  50. Urcia F, Guevara M. Eficacia de Medios de Cultivo con Infusiones de Variedades de Papa en la Identificación del *Trichophyton rubrum*. *Perú Med Exp Salud Publica*. 2002;19(4):206–8.
  51. Pontón J, Moragues D, Gené J, Guarro J, Quindós G. Hongos y Actomicetos alergénicos: *Trichophyton rubrum*. *Rev Iberoam Micol* [Internet]. 2002;1(1):43. Available from: <http://hongos-alergenicos.reviberoammicol.com/files/043.PDF>
  52. Sardana K, Gupta A, Mathachan S. Immunopathogenesis of Dermatophytoses and Factors Leading to Recalcitrant Infections. *Indian Dermatol Online J*. 2021;10(4):481–5.
  53. Uribe M, Cardona N. Mecanismos de adherencia e invasión de dermatofitos a la

- piel. CES Med. 2013;27(1):67–75.
54. Tullio V, Cervetti O, Roana J, Panzone M, Scalas D, Merlino C, et al. Advances in microbiology, infectious diseases and public health: Refractory *Trichophyton rubrum* infections in Turin, Italy: A problem still present. *Adv Exp Med Biol.* 2015;7:17–23.
  55. Patel S, Meixner J, Smith M, McGinnis M. Superficial Mycoses and Dermatophytes [Internet]. Second Edi. *Tropical Dermatology: Second Edition.* Elsevier Inc.; 2016. 189–201 p. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-323-29634-2.00017-1>
  56. Pupiales F, López S, Guerrero M, Guamán C. Onychomycosis caused by *Trichophyton rubrum*: presentation of a clinical case. *Recimundo* [Internet]. 2020;4(2):127–33. Available from: <http://recimundo.com/index.php/es/article/view/830>
  57. Bodman M, Syed H, Krishnamurthy K. Onychomycosis. 2024. *StatPerls.* Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK441853/>
  58. Lipner S, Scher R. Onychomycosis: Clinical overview and diagnosis. *J Am Acad Dermatol.* 2019;80(4):835–51.
  59. Errichetti E, Stinco G. Dermoscopy in tinea manuum. *An Bras Dermatol* [Internet]. 2018;93(3):447–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1590/abd1806-4841.20186366>
  60. Welsh O, Gonzales G. Diagnosis and treatment of fungal infections. *Diagnosis Treat Fungal Infect.* 2015;1–299.
  61. Gupta AK, Stec N, Summerbell RC, Shear NH, Piguet V, Tosti A, et al. Onychomycosis. *J Eur Acad Dermatology Venereol.* 2020;34(9):1972–90.
  62. Ríos Tesch N, Márquez Yáñez R, Mendoza Rojas X, Rojas-Fermín L, Velasco

- Carrillo J, Díaz T, et al. Composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial de *Hyptis suaveolens* (L.) Poit. (Lamiaceae) de los Llanos venezolanos. *Rev Peru Biol* [Internet]. 2015;22(1):103–7. Available from: [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1727-99332015000100007&lang=pt%0Ahttp://www.scielo.org.pe/pdf/rpb/v22n1/a07v22n1.pdf](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1727-99332015000100007&lang=pt%0Ahttp://www.scielo.org.pe/pdf/rpb/v22n1/a07v22n1.pdf)
63. Griffin SG, Markham JL, Leach DN. An agar dilution method for the determination of the minimum inhibitory concentration of essential oils. *J Essent Oil Res.* 2000;12(2):249–55.
64. Riwom E, Nyegue M, Ndoye Foe C, Bouopda Tamo S, Etoa F. In-vitro effects of almond oil, barks and leaves extracts of *Baillonella toxisperma* (Pierre) against *Trichophyton soudanense* and *Trichophyton rubrum*. *J Med Plants Res.* 2015;9(33):892–9.
65. Hernández E. Caracterización del aceite esencial de *Hyptis melissoides* (Kunth, 1891) mediante cromatografía de gases-masas y evaluación de su potencial antimicrobiano en *Klebsiella pneumoniae* y *Staphylococcus aureus*. Unuversidad de Cauca; 2011.
66. Ramirez LS, Marin Castaño D. Methodologies for evaluating the In vitro antibacterial activity of natural compounds of plant origin. *Sci Tech.* 2009;(42):263–8.
67. Shahin A, Wilder C. Bacterial Type Strains. 2022. ATCC. Available from: <https://www.atcc.org/blogs/2022/bacterial-type-strains>
68. Shahin A, Wilder C. The nomenclatural type of a microbial species. 2023. ATCC. Available from: <https://www.atcc.org/microbe-products/type-strains#t=productTab&numberOfResults=24>

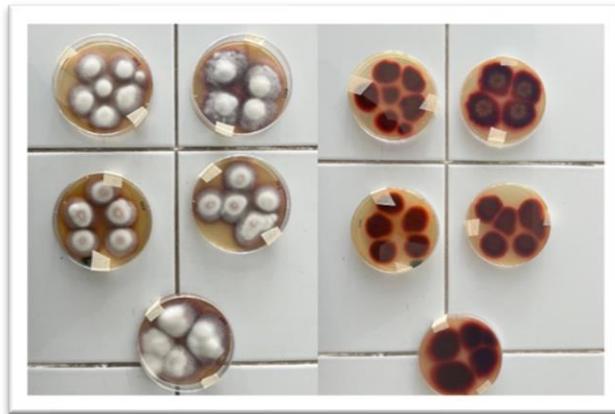
69. Friedel B. ATCC Connection. Reference Strains: How many passages are too many? 2003;1-3.

## APÉNDICES

### Apéndice N° 1. Cultivos provenientes de los laboratorios de microbiología de la red asistencial ESSALUD – Cajamarca y del Hospital Regional de Cajamarca.



Cultivos de *T. rubrum* provenientes de los laboratorios de microbiología

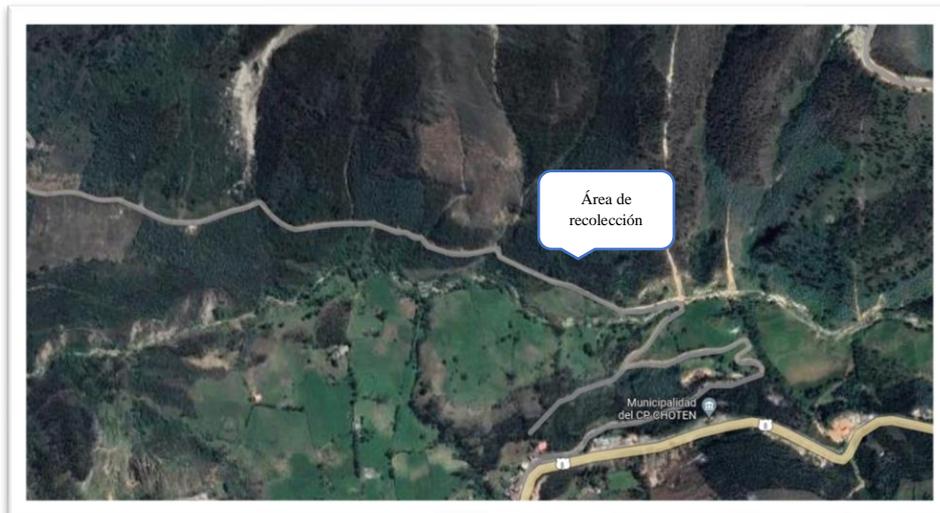
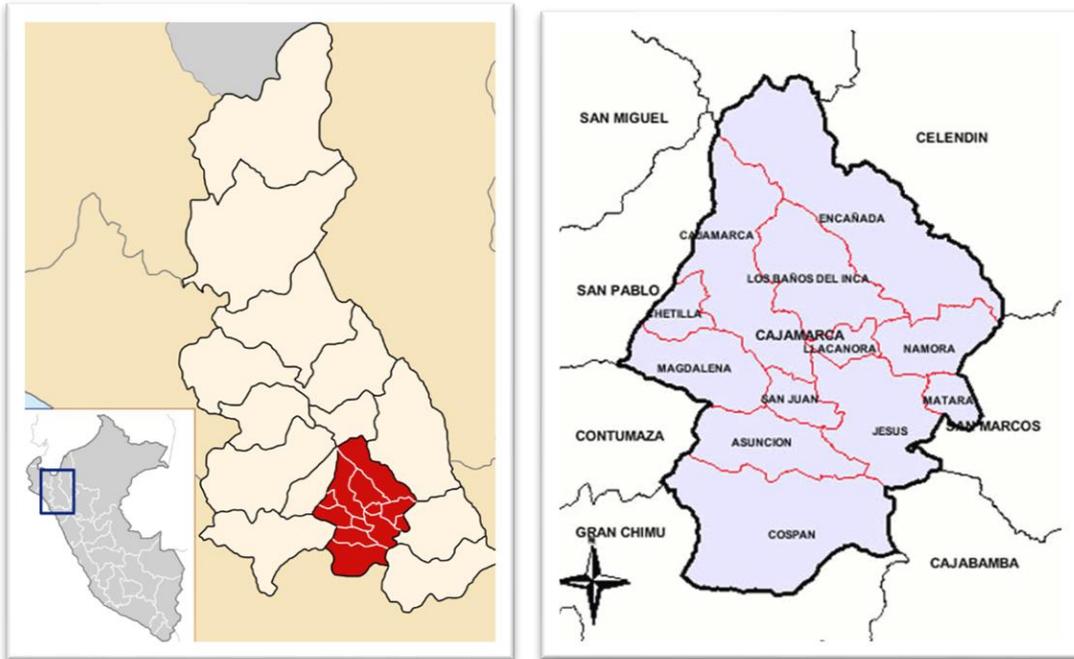


Cultivos de *T. rubrum*  
(crecimiento en placas)

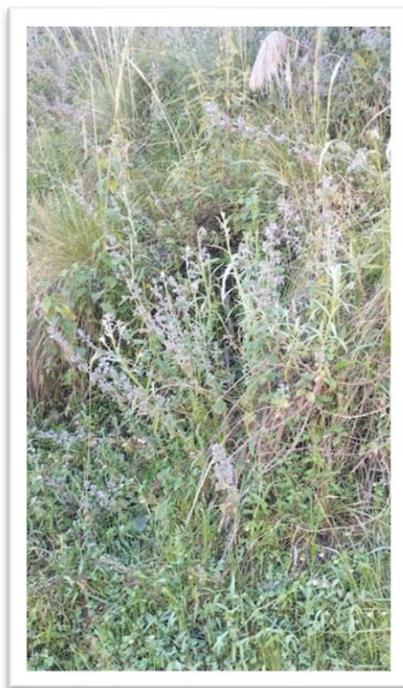
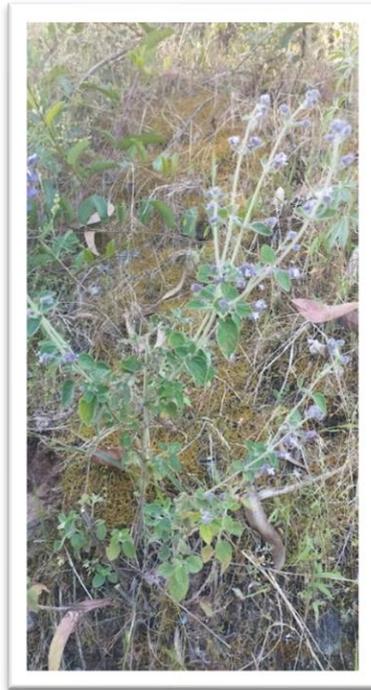


Cultivos de *T. rubrum*  
(crecimiento en tubo)

## Apéndice N° 2. Lugar de recolección del material vegetal



**Apéndice N° 3. Colección de la muestra vegetal**



Colección de la muestra vegetal  
*H. eriocephala*

#### Apéndice N° 4. Selección de la muestra vegetal



Selección de hojas de  
*H. eriocephala*

**Apéndice N° 5. Obtención del extracto alcohólico de *H. eriocephala***



Pesaje del material vegetal



Medición de alcohol de 70°



Pulverización del material vegetal



Filtración del extracto después de la maceración



Extracto resultante



Extracto utilizado



Extracto en el rotavapor



Extracto resultante



Conservación del extracto

**Apéndice N° 6. Obtención del aceite esencial de *H. eriocephala***



Sistema de extracción por  
arrastre de vapor



Aceite obtenido

## Apéndice N° 7. Reactivación de *T. rubrum* ATCC 28188



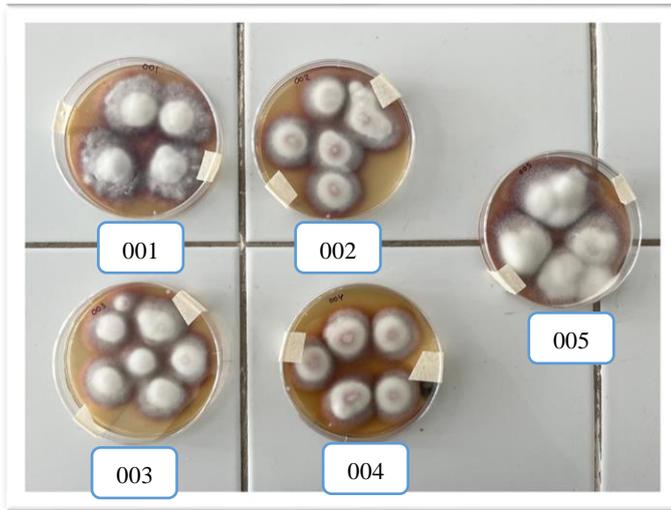
Cepa de referencia Trichophyton  
Rubrum ATCC® 28188™.



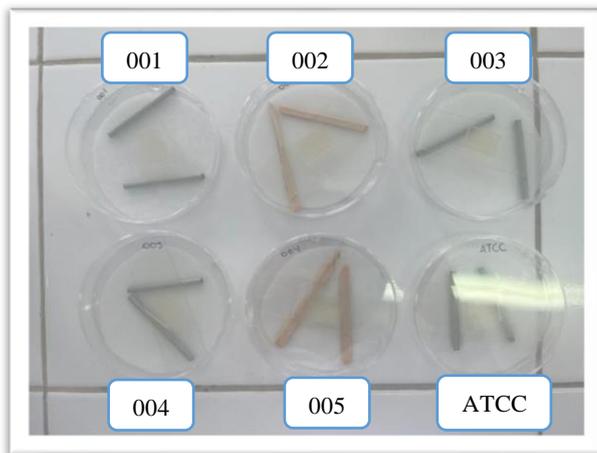
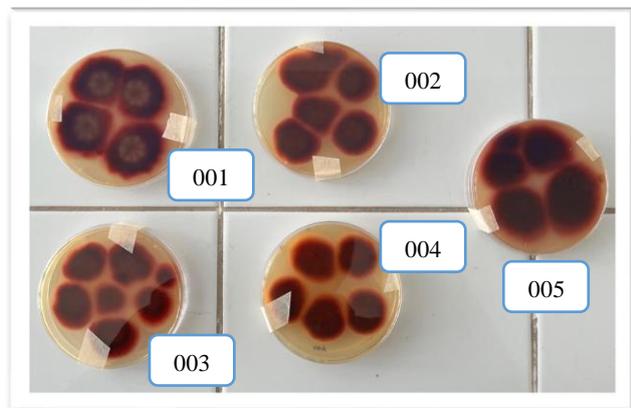
Reactivación de la  
cepa de referencia



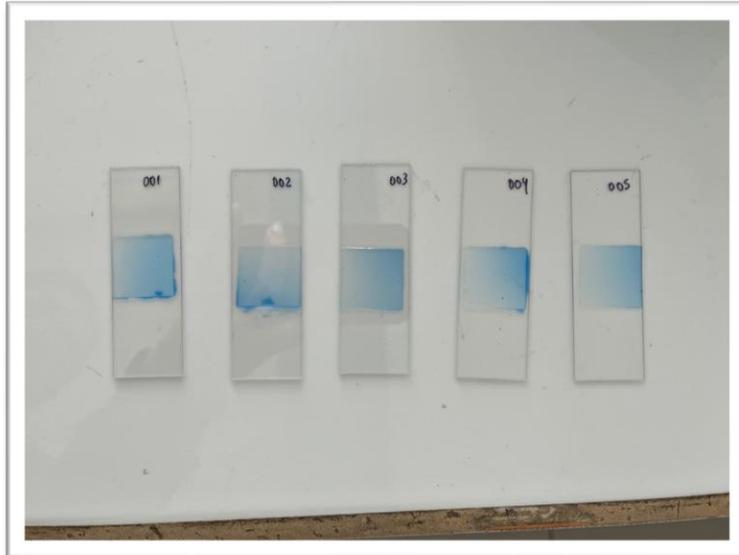
**Apéndice N° 8. Confirmación de aislamientos clínicos de *T. rubrum***



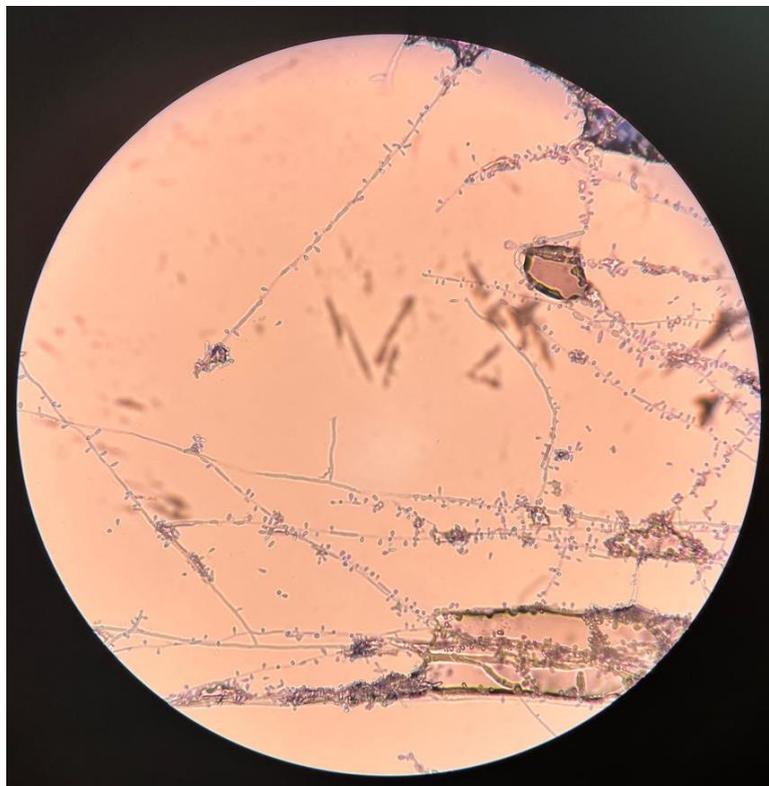
Crecimiento en placa de los aislamientos clínicos



Microcultivos de los aislamientos clínicos y la cepa ATCC 28188 de *T. rubrum*



Tinción con Lactofenol



Observación microscópica 40X  
*T. rubrum* ATCC 28188  
Microconidios



Observación  
microscópica 40X  
Aislamiento 001  
Microconidios



Observación  
microscópica 40X  
Aislamiento 002  
Microconidios



Observación  
microscópica 40X  
Aislamiento 003  
Microconidios

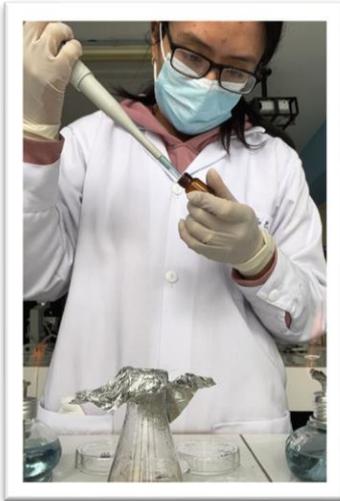


Observación  
microscópica 40X  
Aislamiento 004  
Microconidios

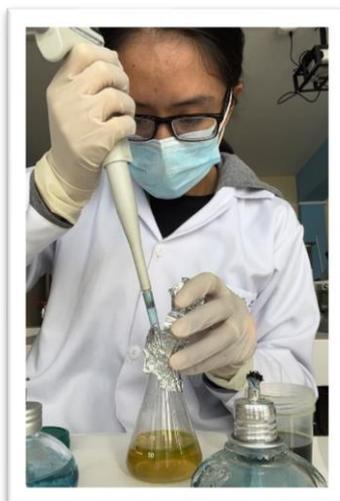
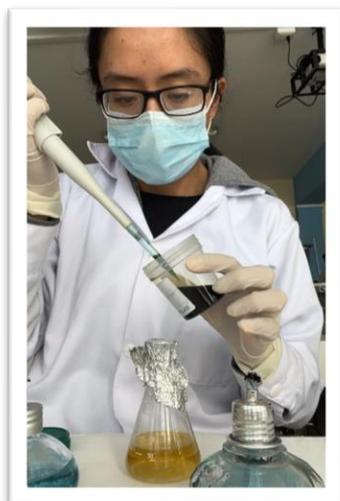


Observación microscópica 40X  
Aislamiento 005  
Microconidios

## Apéndice N° 9. Preparación de medios de cultivo



Preparación del medio de cultivo  
(Agar Saboraud + AE de *H. eriocephala*)

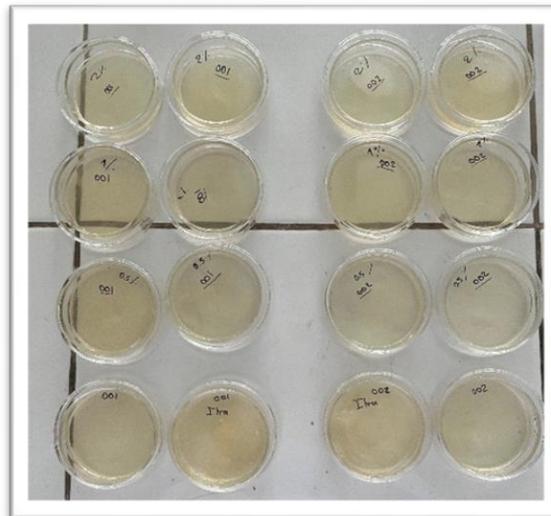


Preparación del medio de cultivo  
(Agar Saboraud + EA de *H. eriocephala*)

Apéndice N° 10. Siembra de aislamientos de *T. rubrum*



Siembra de *T. rubrum*



Placas sembradas con *T. rubrum*

**Apéndice N° 11. Evaluación del efecto antimicótico del aceite esencial y extracto alcohólico de *H. eriocephala***

<b>Código:</b>	<b>001</b>	
<b>Aceite Esencial</b>		
	<b>Placa 1</b>	<b>Placa 2</b>
<b>2%</b>	+	+
<b>1%</b>	+	+
<b>0,5%</b>	+	+
<b>Itraconazol</b>	+	+
<b>Testigo</b>	-	-
<b>Extracto Alcohólico</b>		
	<b>Placa 1</b>	<b>Placa 2</b>
<b>2%</b>	-	-
<b>1%</b>	-	-
<b>0,5%</b>	-	-
<b>Itraconazol</b>	+	+
<b>Testigo</b>	-	-

**Leyenda:** (+) = Inhibición (-) = No Inhibición

<b>Código:</b>	<b>002</b>	
<b>Aceite Esencial</b>		
	<b>Placa 1</b>	<b>Placa 2</b>
<b>2%</b>	+	+
<b>1%</b>	+	+
<b>0,5%</b>	+	+
<b>Itraconazol</b>	+	+
<b>Testigo</b>	-	-
<b>Extracto Alcohólico</b>		
	<b>Placa 1</b>	<b>Placa 2</b>
<b>2%</b>	-	-
<b>1%</b>	-	-
<b>0,5%</b>	-	-
<b>Itraconazol</b>	+	+
<b>Testigo</b>	-	-

**Leyenda:** (+) = Inhibición (-) = No Inhibición

<b>Código:</b>	<b>003</b>	
<b>Aceite Esencial</b>		
	<b>Placa 1</b>	<b>Placa 2</b>
<b>2%</b>	+	+
<b>1%</b>	+	+
<b>0,5%</b>	+	+
<b>Itraconazol</b>	+	+
<b>Testigo</b>	-	-
<b>Extracto Alcohólico</b>		
	<b>Placa 1</b>	<b>Placa 2</b>
<b>2%</b>	-	-
<b>1%</b>	-	-
<b>0,5%</b>	-	-
<b>Itraconazol</b>	+	+
<b>Testigo</b>	-	-

**Leyenda:** (+) = Inhibición (-) = No Inhibición

<b>Código:</b>	<b>004</b>	
<b>Aceite Esencial</b>		
	<b>Placa 1</b>	<b>Placa 2</b>
<b>2%</b>	+	+
<b>1%</b>	+	+
<b>0,5%</b>	+	+
<b>Itraconazol</b>	+	+
<b>Testigo</b>	-	-
<b>Extracto Alcohólico</b>		
	<b>Placa 1</b>	<b>Placa 2</b>
<b>2%</b>	-	-
<b>1%</b>	-	-
<b>0,5%</b>	-	-
<b>Itraconazol</b>	+	+
<b>Testigo</b>	-	-

**Leyenda:** (+) = Inhibición (-) = No Inhibición

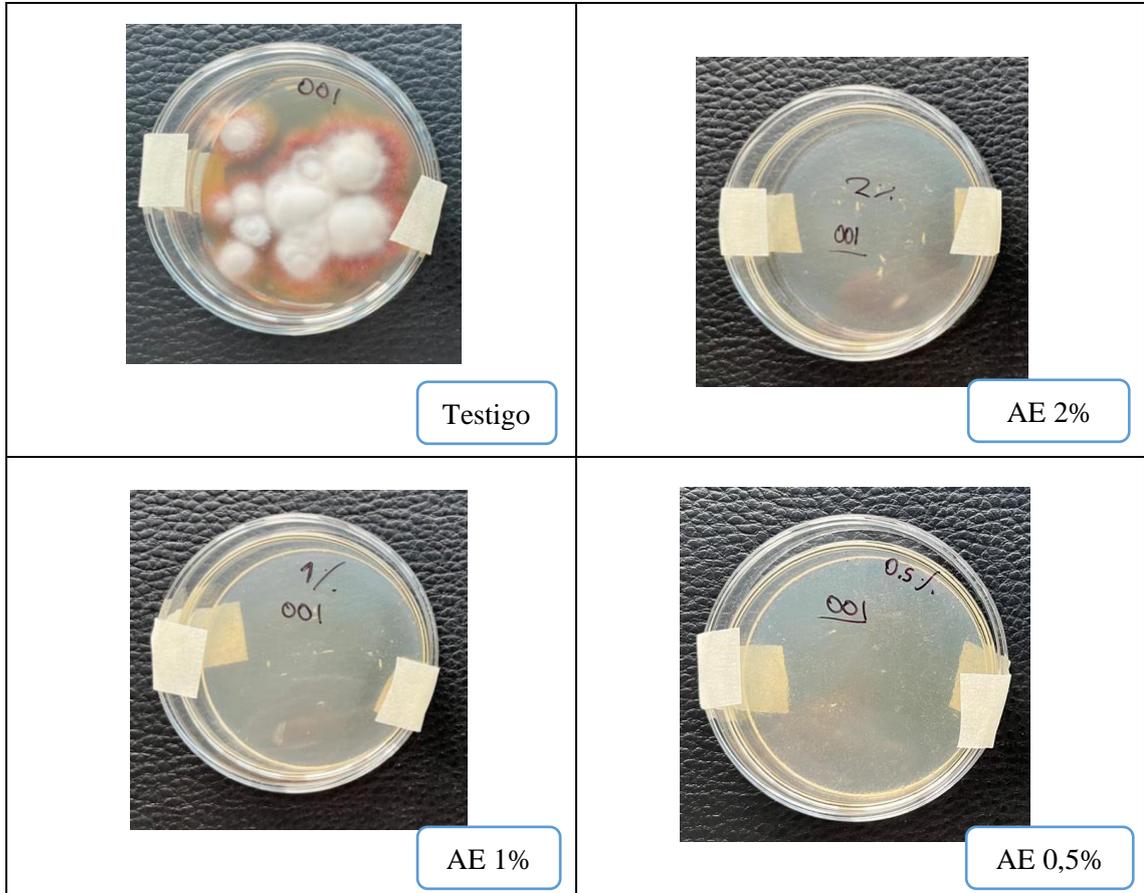
<b>Código:</b>	<b>005</b>	
<b>Aceite Esencial</b>		
	<b>Placa 1</b>	<b>Placa 2</b>
<b>2%</b>	+	+
<b>1%</b>	+	+
<b>0,5%</b>	+	+
<b>Itraconazol</b>	+	+
<b>Testigo</b>	-	-
<b>Extracto Alcohólico</b>		
	<b>Placa 1</b>	<b>Placa 2</b>
<b>2%</b>	-	-
<b>1%</b>	-	-
<b>0,5%</b>	-	-
<b>Itraconazol</b>	+	+
<b>Testigo</b>	-	-

**Leyenda:** (+) = Inhibición (-) = No Inhibición

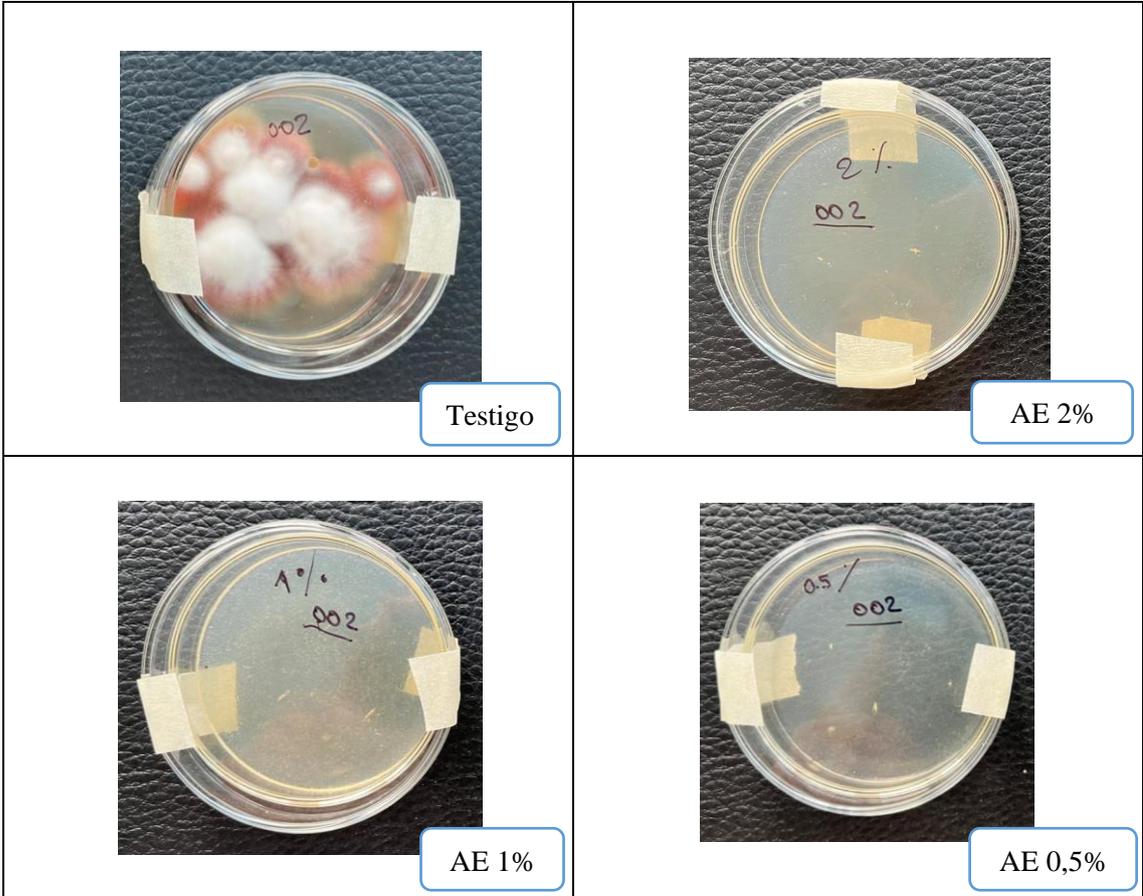
<b>Código:</b>	<i>Trichophyton rubrum</i> ATCC	
<b>Aceite Esencial</b>		
	<b>Placa 1</b>	<b>Placa 2</b>
<b>2%</b>	-	-
<b>1%</b>	-	-
<b>0,5%</b>	-	-
<b>Itraconazol</b>	+	+
<b>Testigo</b>	-	-
<b>Extracto Alcohólico</b>		
	<b>Placa 1</b>	<b>Placa 2</b>
<b>2%</b>	-	-
<b>1%</b>	-	-
<b>0,5%</b>	-	-
<b>Itraconazol</b>	+	+
<b>Testigo</b>	-	-

**Leyenda:** (+) = Inhibición (-) = No Inhibición

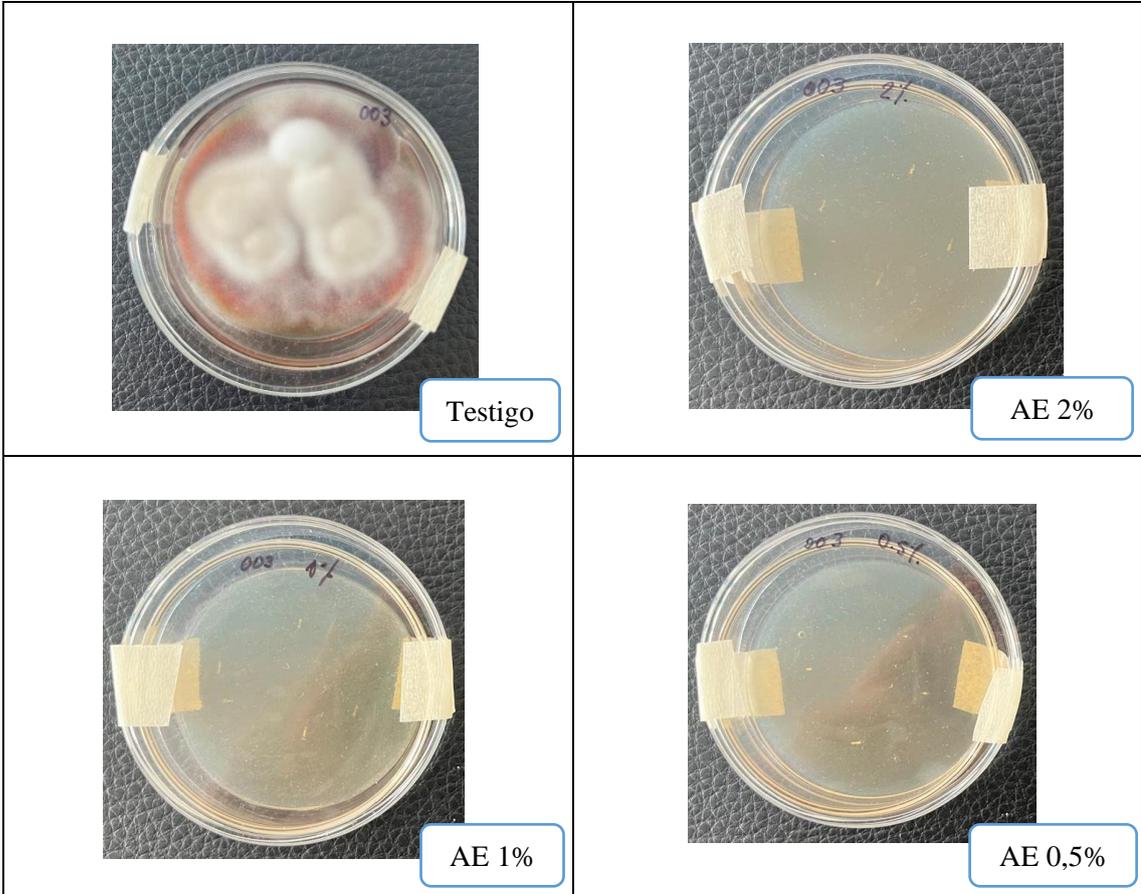
Apéndice N° 12. Resultados del efecto *in vitro* del aceite esencial de *H. eriocephala*



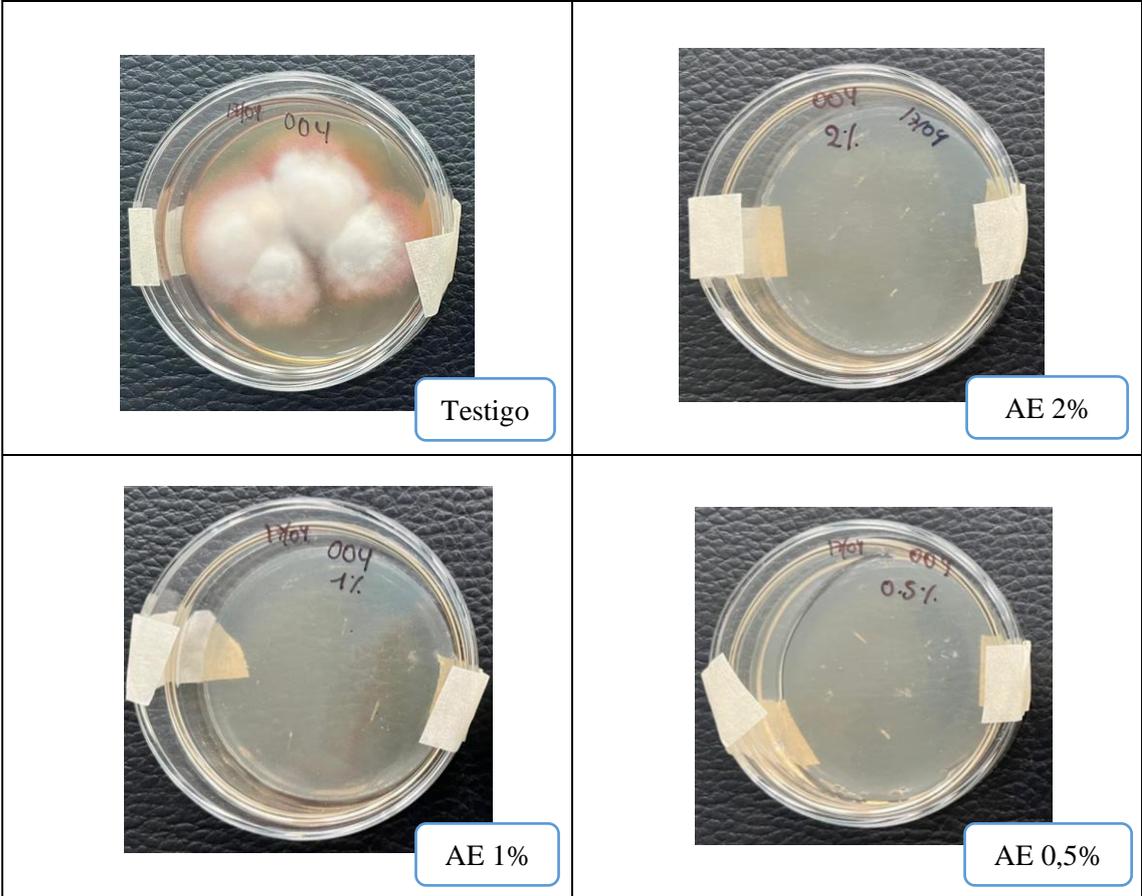
Resultados del aislamiento 001



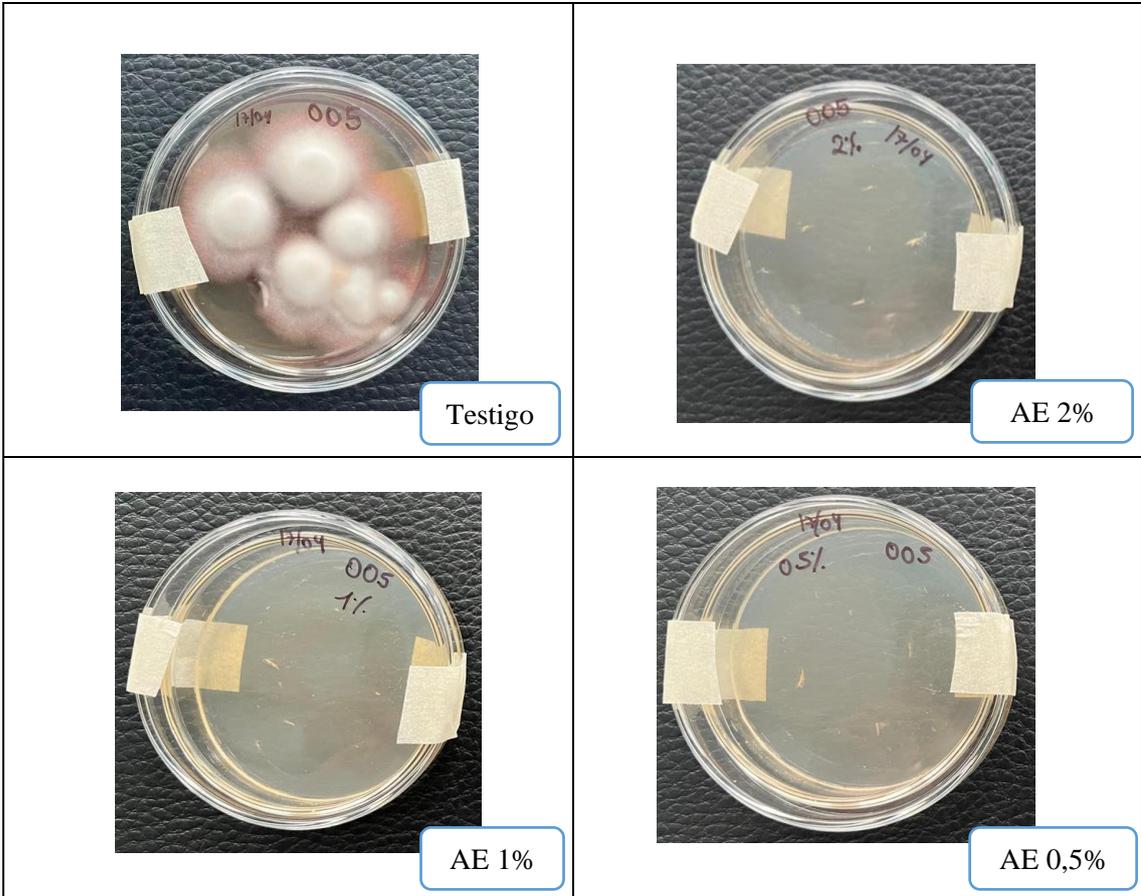
Resultados del aislamiento 002



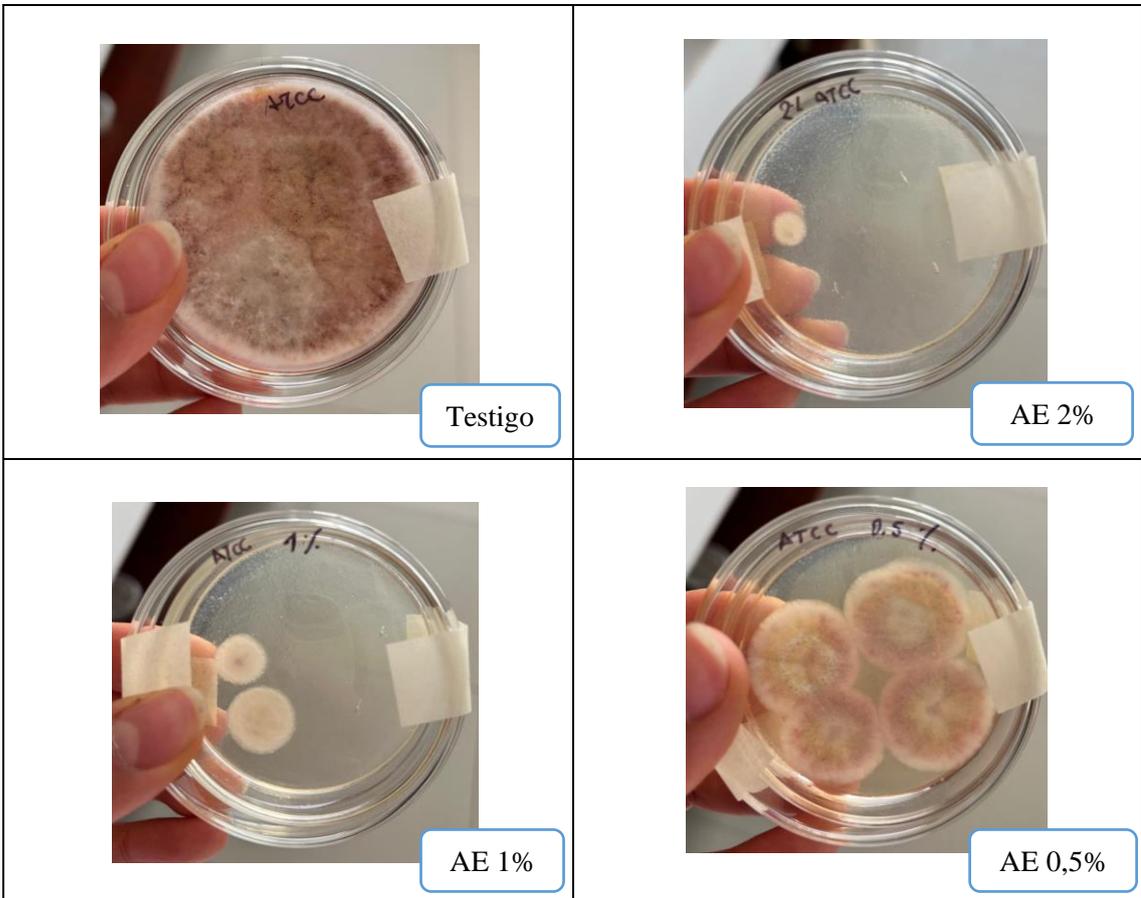
Resultados del aislamiento 003



Resultados del aislamiento 004

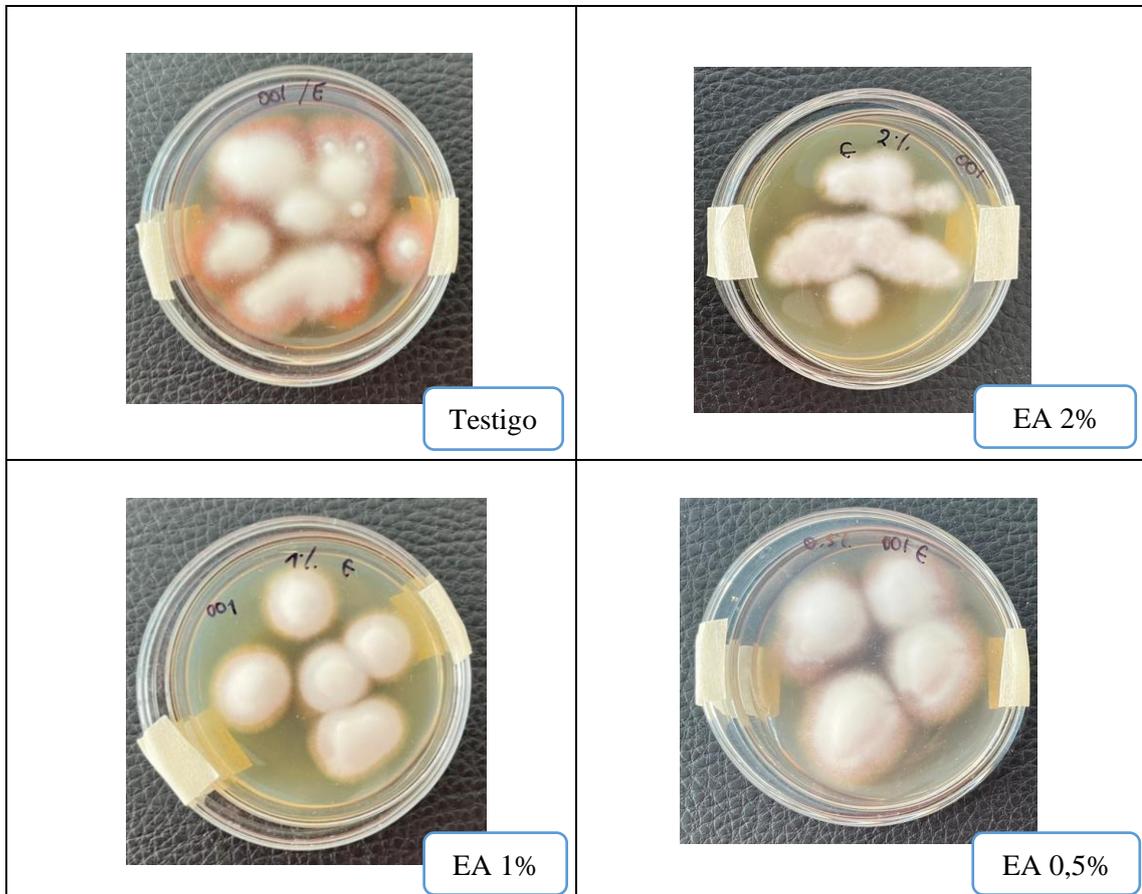


Resultados del aislamiento 005

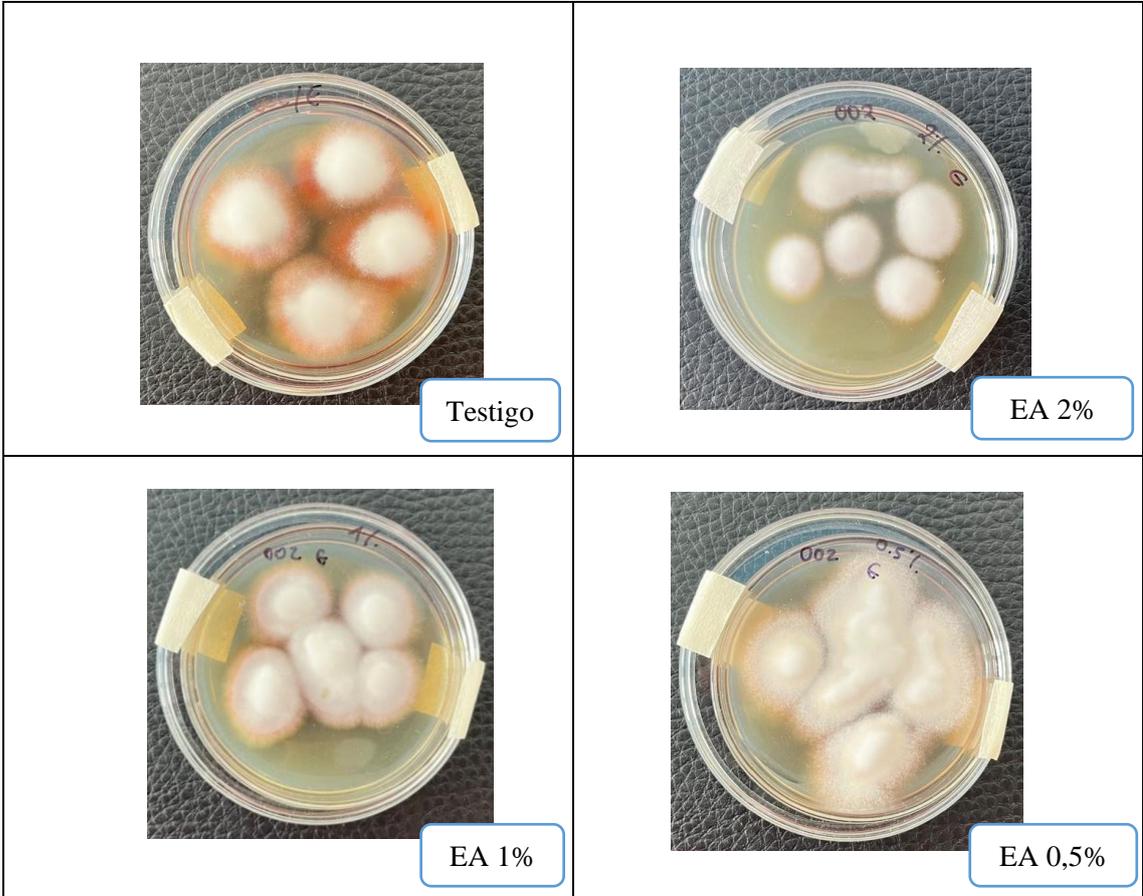


Resultados de la cepa ATCC 28188

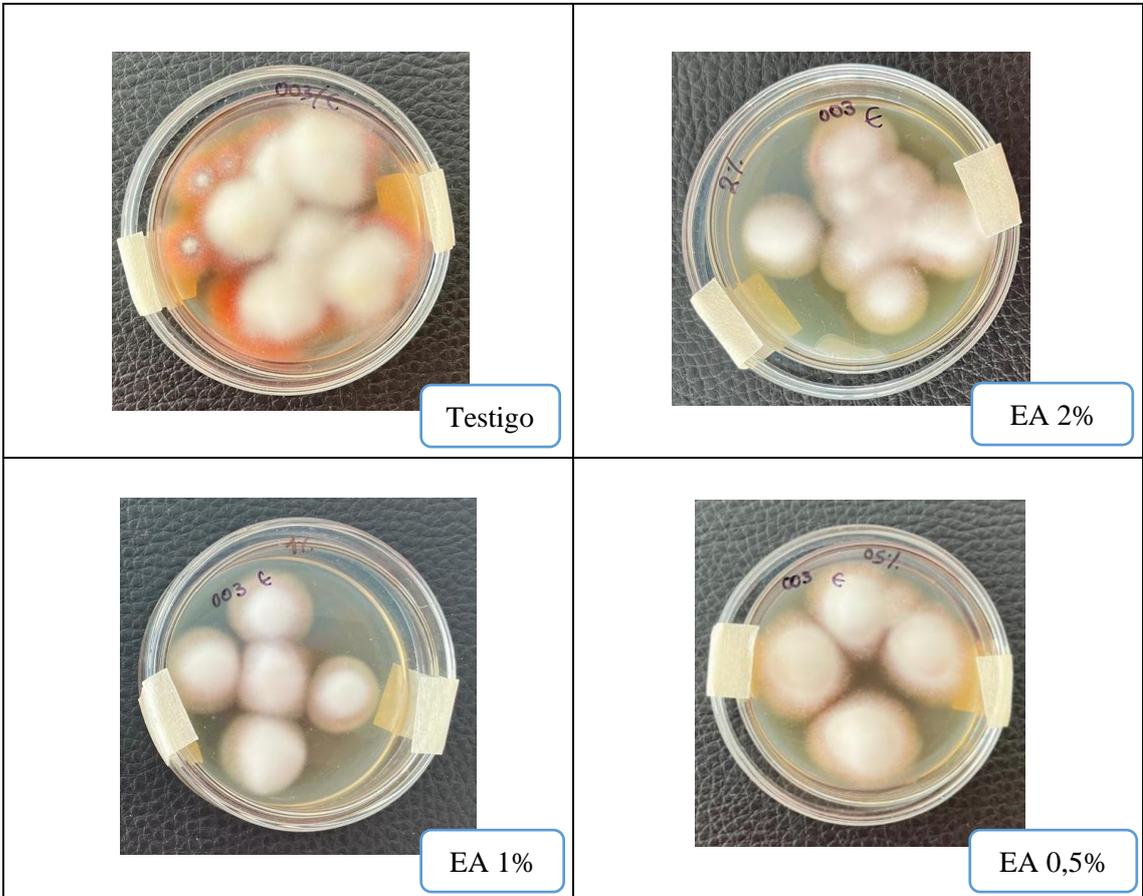
**Apéndice N° 13. Resultados del efecto *in vitro* del extracto alcohólico de *H. eriocephala*.**



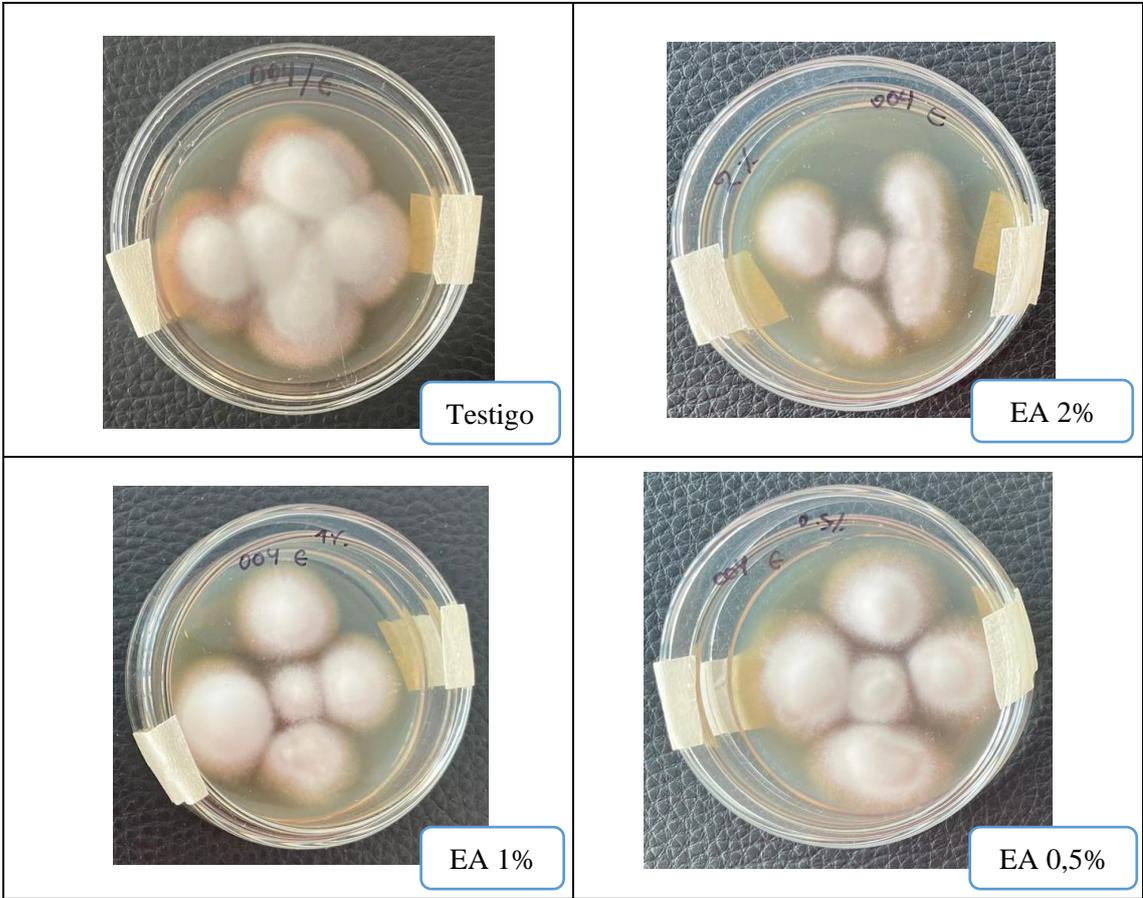
Resultados del aislamiento 001



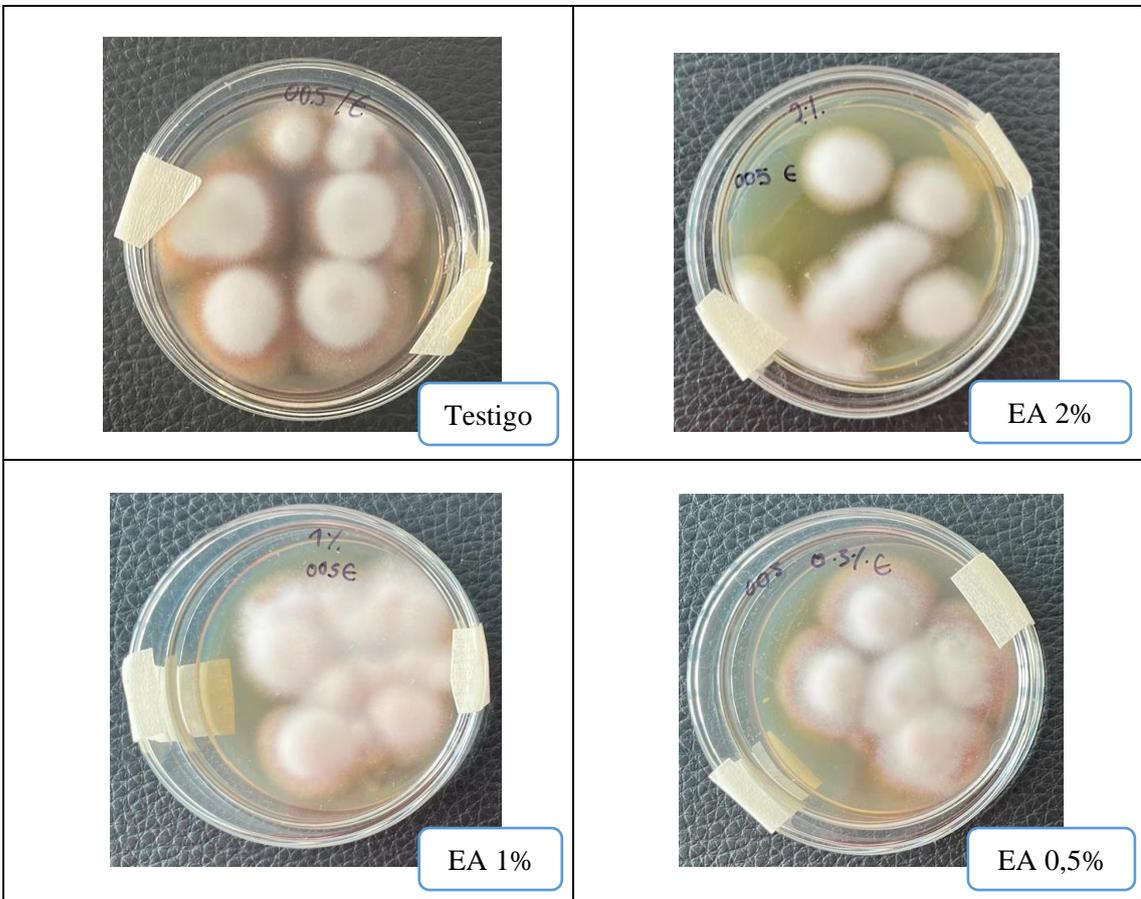
Resultados del aislamiento 002



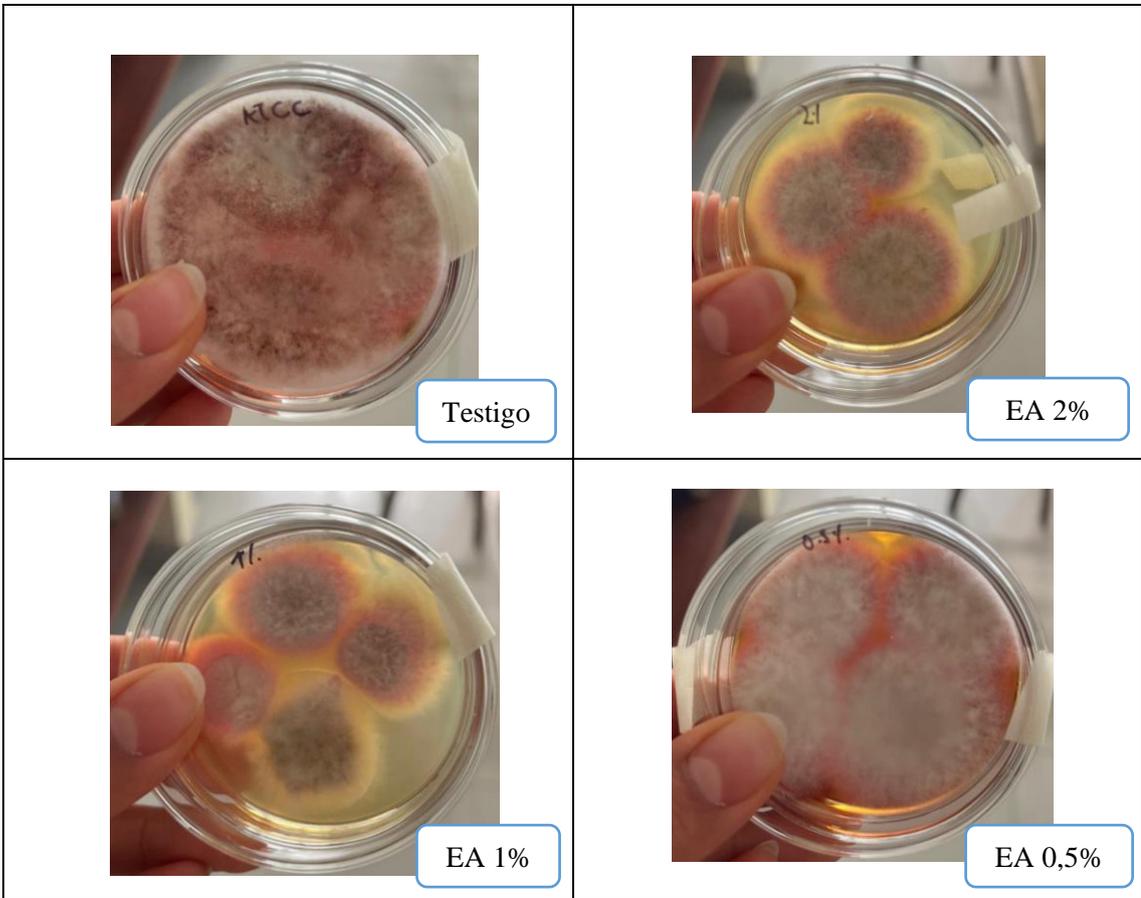
Resultados del aislamiento 003



Resultados del aislamiento 004



Resultados del aislamiento 005



Resultados de la cepa ATCC 28188

## Apéndice N° 14. Prueba de hipótesis estadística

### 1. Hipótesis estadísticas:

$H_0$ : No hay asociación entre las concentraciones de aceite esencial de *H. eriocephala* y la inhibición del crecimiento de *T. rubrum*.

$H_1$ : Existe asociación entre las concentraciones del aceite esencial y la inhibición del crecimiento de *T. rubrum*.

### 2. Nivel de significación:

$$p \leq 0,05$$

### 3. Prueba estadística:

**Tabla cruzada Efecto inhibitorio\*Concentración de aceite esencial**

Recuento		Concentración de aceite esencial			Total
		2%	1%	0.5%	
Efecto inhibitorio	Sí	10	10	10	30
	No	2	2	2	6
Total		12	12	12	36

**Pruebas de chi-cuadrado**

	Valor	df	Significación asintótica (bilateral)	Sig. Monte Carlo (bilateral)		Sig. Monte Carlo (unilateral)		
				Significación	Intervalo de confianza al 99%	Significación	Intervalo de confianza al 99%	Intervalo de confianza al 99%
				Límite inferior	Límite superior		Límite inferior	Límite superior
Chi-cuadrado de Pearson	,000 <sup>a</sup>	2	1,000	1,000 <sup>b</sup>	1,000	1,000		
Razón de verosimilitud	,000	2	1,000	1,000 <sup>b</sup>	1,000	1,000		
Prueba exacta de Fisher	,228			1,000 <sup>b</sup>	1,000	1,000		
Asociación lineal por lineal	,000 <sup>c</sup>	1	1,000	1,000 <sup>b</sup>	1,000	1,000	,604 <sup>b</sup>	,591
N de casos válidos	36							

a. 3 casillas (50,0%) han esperado un recuento menor que 5. El recuento mínimo esperado es 2,00.

b. Se basa en 10000 tablas de muestras con una semilla de inicio 624387341.

c. El estadístico estandarizado es ,000.

### 4. Criterios de decisión:

$p > 0,05$ : No se rechaza la hipótesis nula.

$p \leq 0,05$ : Se rechaza la hipótesis nula

### 5. Conclusión:

No hay asociación entre las concentraciones de aceite esencial de *H. eriocephala* y la inhibición del crecimiento de *T. rubrum*.

## ANEXOS

### Anexo N°1. Constancia taxonómica de *H. eriocephala*

 <small>Constancia generada el: 24/04/2023 10:08:30</small>	<b>UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA</b> FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD DEPARTAMENTO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS ÁREA DE BOTÁNICA <b>HERBARIO CPUN "ISIDORO SÁNCHEZ VEGA"</b> <small>herbariocpunisv@gmail.com Av. Atahualpa N° 1050 - Cajamarca</small>	
---	--	---

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

**HACE CONSTAR:**

Que, la muestra botánica procedente del centro poblado de Yumahual, ubicado a 3118 msnm, con coordenadas 7° 15' 17" L.S. 78° 29' 54" L.O. distrito San Juan, departamento de Cajamarca, presentada por la Bachiller: **Nadia Marite Escalante Juárez**, de la Escuela Académico Profesional de Biología y Biotecnología de la Universidad Nacional de Cajamarca. Es parte del Proyecto: "**Efecto *in Vitro* del extracto de alcohólico y aceite esencial de *Hyptis eriocephala* Benth. 1848 (shogon) sobre aislamientos clínicos de *Trichophyton rubrum* en la ciudad de Cajamarca**".

Las cuales fueron analizadas y determinadas científicamente en nuestra institución como:

- Especie: ***Hyptis eriocephala* Benth.**
- Género: ***Hyptis***
- Familia: **Lamiaceae**
- Orden: **Lamiales**
- Clase: **Magnoliosida**
- División: **Magnoliophyta**

Se expide el presente para los fines que sean necesarios.

Cajamarca, 24 de abril del 2023

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

cc: Secretaria del Herbario.