



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA

Efecto de la concentración del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* sobre el crecimiento de *Microsporium canis*, in vitro.

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

Médico Cirujano

AUTOR:

Huaman Andia, Alan Rony (orcid.org/0000-0003-3570-4131)

ASESOR:

Salazar Castillo, Marco Leoncio (orcid.org/0000-0001-6234-0092)

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:

Enfermedades Infecciosas y Transmisibles

LÍNEA DE RESPONSABILIDAD SOCIAL UNIVERSITARIA:

Apoyo a la reducción de brechas y carencias en la educación en todos sus niveles

PIURA - PERÚ

2023

DEDICATORIA

A Dios, a mi familia por ser la motivación
Para seguir adelante y saber que todo va a
estar bien a mis abuelos que desde el cielo
me seguirán bendiciendo con buena salud,
dándome inspiración, fuerzas para seguir
adelante y enfrentar nuevos desafíos con
confianza en mi vida profesional y familiar.
Gracias familia”.

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios, quien ha sido mi guía, fortaleza y esperanza a lo largo de toda mi vida; a mi familia y a mi asesor por permitir realizar esta tesis que ayudará mucho en el tratamiento para enfermedades dérmicas y que servirá de base para futuros trabajos de investigación.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

CARÁTULA	
DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTO	iii
ÍNDICE DE CONTENIDO	iv
ÍNDICE DE TABLAS	v
ÍNDICE DE GRÁFICOS Y FIGURAS	vi
RESUMEN.....	vii
ABSTRACT	viii
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. MARCO TEÓRICO	5
III. METODOLOGÍA	11
3.1. Tipo y diseño de investigación:.....	11
3.2. Variables y operacionalización	11
3.3. Población, muestra y muestreo:	12
3.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos	14
3.5. Procedimientos.....	14
3.6. Método de análisis de datos	16
3.7. Aspectos éticos:	16
IV. RESULTADOS	18
V. DISCUSIÓN	21
VI. CONCLUSIONES.....	23
VII. RECOMENDACIONES.....	24
REFERENCIAS	25
ANEXOS	

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Efecto in vitro de diferentes concentraciones de aceite esencial de <i>Rosmarinus officinalis</i> sobre el crecimiento de <i>Microsporun canis</i> , expresado en centímetros de diámetro de la colonia micelial.....	17
--	----

ÍNDICE DE GRÁFICOS Y FIGURAS

Figura. N° 1. Mapa localización de la localidad del distrito de la arena.....12

Figura N° 2. Crecimiento micelial de *M. canis*, en agar Sabouraud dextrosa a los 21 días de incubación a 25 ± 2 °C, en el control y en las diferentes concentraciones del aceite esencial de *R. officinales* ensayadas.
.....18

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo de tesis fue evaluar el efecto in vitro del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* sobre el crecimiento de *Microsporium canis*. Para ello se preparó y esterilizó el medio agar Sabouraud Dextrosa conteniendo concentraciones de dicho aceite esencial de 0 (control), 0.05, 0.10, 0.20 y 0.40 %, respectivamente; se sembró por puntura central un fragmento de micelio proveniente de un cultivo monospórico del hongo en estudio, se incubó a $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ hasta 21 días y se realizaron las lecturas del crecimiento micelial en centímetros de diámetro. Se encontró que el aceite esencial de *R. officinalis* en todas las concentraciones ensayadas ($\geq 0.05\%$) inhiben el crecimiento de *M. canis*. Se concluye que, el aceite esencial de *R. officinalis* en la concentración $\geq 0.05\%$ inhibe completamente el crecimiento de *M. canis*

Palabras clave: *Rosmarinus officinalis*, aceites volátiles, micelio

ABSTRACT

The objective of this thesis work was to evaluate the in vitro effect of *Rosmarinus officinalis* essential oil on the growth of *Microsporum canis*. For this purpose, the Sabouraud Dextrose agar medium was prepared and sterilized, containing concentrations of said essential oil of 0 (control), 0.05, 0.10, 0.20 and 0.40%, respectively; A fragment of mycelium from a monosporic culture of the fungus under study was planted by central puncture, incubated at $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ for up to 21 days and readings of mycelial growth in centimeters of diameter were made. It was found that the essential oil of *R. officinalis* at all concentrations tested ($\geq 0.05\%$) inhibited the growth of *M. canis*. It is concluded that the essential oil of *R. officinalis* at a concentration $\geq 0.05\%$ completely inhibits the growth of *M. canis*.

Keywords: *Rosmarinus officinalis*, volatile oil, mycelium

I. INTRODUCCIÓN

Las infecciones fúngicas superficiales (IFS) son infecciones que afectan la capa queratinizada de la piel, uñas y cabello y que son causadas principalmente por dermatofitos (1). *Trichophyton rubrum* es el dermatofito aislado con más frecuencia (70,10%), le siguen *T. mentagrophytes*, *Microsporum canis* y *Epidermophyton floccosum* con un 15.10, 9.40 y 4.00% respectivamente (2).

En el área clínica existe alta sospecha de infección por dermatofitos en pacientes con alopecia, escamas, despigmentación, costras, con intenso prurito, en cabeza, cuello, miembros superiores e inferiores (3). La tiña de cuero cabelludo (TCC), es una infección dermatofítica prevalente en niños con clínica heterogénea, según el tipo de hongo, con tasas altas de hasta el 59% siendo mayor en países subdesarrollados. El diagnóstico definitivo se realiza por examen micológico directo y por cultivo y el tratamiento es local y sistémico, aplicando medidas profilácticas como evitar el contacto con animales de riesgo y fómites contaminados con *M. canis* a fin de evitar un brote epidémico o una reinfección del paciente (4). La terapia antimicótica tópica es útil para reducir la transmisión de esporas y es usada como terapia adyuvante de los antimicóticos sistémicos; por otro lado, la terapia combinada con antimicóticos tópicos y orales incrementa la tasa de una evolución favorable (5).

La distribución de TCC epidemiológicamente es cambiante entre regiones ya a nivel local, nacional e internacional (6). Esta tiña es causada con mayor frecuencia por *Trichophyton tonsurans* y *M. canis*, con una incidencia mayor en niños de 3 y 7 años respectivamente (7).

M. canis es un hongo zoonótico que causa dermatofitosis en animales domésticos y humanos siendo el principal reservorio los gatos. Se han reportado datos que el tratamiento anti fúngico farmacológico causa efectos adversos, siendo uno de ellos la insuficiencia venosa crónica, la diabetes mellitus, trastornos de inmunidad celular y la predisposición genética; por lo que se ha incrementado la demanda de los

tratamientos alternativos utilizando los aceites esenciales, siendo para la presente investigación el de *Rosmarinus officinalis* (8).

Los aceites esenciales (AE) están constituidos por compuestos fitoquímicos como los fenoles, terpenoides, aldehídos, cetonas, éteres, epóxidos y otros más, que influyen en la efectividad contra diferentes patógenos entre ellas protozoarios, helmintos, hongos, virus, bacterias e insectos en sus distintos estados (9).

También se ha encontrado que los AE ejercen efecto hepatoprotector en dosis de 5 y 10 mg/kg al disminuir la actividad de transaminasas (AST y ALT) hasta 2 veces en el suero de animales (ratas) tratadas con tetracloruro de carbono que induce daño a nivel hepático (10).

Como se sabe, el uso terapéutico de la medicina natural se aplica desde la antigüedad como una alternativa farmacológica para tratar las enfermedades; sin embargo, aún falta evidencia científica suficiente que consolide dicho conocimiento dentro de los sistemas de salud. Para la OMS, los medicamentos naturales son hierbas, extractos y preparaciones que presentan ciertos principios activos, cuyo uso está normado y universalmente reconocido como seguro y eficaz (11); a su vez también, la OMS informa que en los países en vías de desarrollo, aproximadamente 80% de ciudadanos utilizan la medicina tradicional en beneficio de su salud, no obstante, el 25 % de los medicamentos prescritos en el mundo se derivan de plantas (12).

En los últimos años, existe mayor interés por la medicina natural, aun con recomendación baja por personal sanitario y las comunidades rurales con poco acceso a los productos farmacéuticos ya por carencia de farmacias en las comunidades o de personal sanitario en instituciones laborales y por los precios de los productos farmacéuticos que no están al alcance de la población; por otro lado, la idiosincrasia de la población y el difícil acceso a las comunidades rurales, la población hace uso de la medicina natural, la cual está al alcance de la población, en relación a la atención primaria de salud.

Perú tiene 84 ecorregiones de las 107 que tiene el mundo con gran biodiversidad; respecto a la flora, el Perú tiene el 7% de plantas que tiene el planeta, correspondiendo al 60% de la flora estudiada y de ellas 1400 especies son de uso medicinal, y muchas de ellas no han sido estudiadas en su totalidad (13). En chachapoyas las plantas medicinales, para ciertas enfermedades en su mayoría son utilizadas por la clase social baja, siendo menor en las clases intermedia y alta; se adquieren en los mercados y las formas de consumo está dada más por la cultura andina que por conocimiento científico (14). En Piura, no se ha encontrado reportes de dermatofitosis, a pesar que en la clínica diaria se observan pacientes con enfermedades dermatológicas importantes, en gatos y en perros, además de terapias erróneas sin el correcto diagnóstico etiológico (15).

En el presente proyecto se propuso como problema estudiar ¿Cual es el efecto de la concentración del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* Stapf “romero” sobre el crecimiento micelial de *Microsporum canis*. in vitro?, y como respuesta a este problema se planteó la hipótesis siguiente: A medida que se incrementa la concentración del aceite esencial de *R. officinalis* “romero”, disminuirá el crecimiento micelial de *M. canis* in vitro. Se tuvo como objetivo general: Evaluar el efecto in vitro de la concentración del aceite esencial de *R. officinalis* sobre el crecimiento micelial de *M. canis*, y como objetivos específicos: Extraer el aceite esencial de *R. officinalis*, determinar la tasa de crecimiento micelial y el porcentaje de inhibición de crecimiento micelial de *M. canis*.

Por todo lo expuesto anteriormente nació el interés en realizar el trabajo de investigación, por un lado, para conocer el efecto del aceite esencial de *R. officinalis*, conocida como romero, planta domestica que pertenece a la familia Lamiaceae originaria de la región mediterránea y cultivada en todo el mundo, con múltiples propiedades benéficas y, por otro lado, para presentar un producto natural que permita disminuir la morbimortalidad causada por dermatofitosis el cual está afectando la economía de la población debido a un tratamiento costoso e ineficaz.

El estado emocional se ve afectado por la cicatriz que deja la lesión y más aún si son TCC complicadas. Dicha investigación se realizó in vitro, en el laboratorio de

Universidad Nacional de Trujillo en el 2023 siendo la variable independiente las cuatro concentraciones del AE de *Rosmarinus officinalis* y la variable dependiente el crecimiento micelial de *M. canis*. La metodología fue de tipo básica experimental, teniendo como universo el AE de *Rosmarinus officinalis* a distintas concentraciones y el *M. canis* en cultivo.

Dentro de las limitaciones se tuvo que hay pocos trabajos que han abordado el mecanismo de acción de los AE, la mayoría solo miden el halo de inhibición a diferentes concentraciones.

Se espera que como resultado del presente trabajo de investigación se utilice dicho aceite esencial en el tratamiento concomitante con el farmacológico en pacientes con tiña.

II. MARCO TEÓRICO

Se han identificado aproximadamente 150 moléculas que constituyen el aceite esencial (AE) de *R. officinalis*, siendo las más frecuentes 1,8-cineol, α -pineno y alcanfor. Este AE presenta acción antiinflamatoria básicamente por, bloqueo de la transcripción de NF-kB y la inhibición de la cascada del ácido araquidónico, para procesos agudos y no se ha registrado respuesta para procesos crónicos ; tiene actividad antioxidante presenta actividad relajante del músculo liso que contribuye a mejorar de las enfermedades inflamatorias de las vías respiratorias; también se ha encontrado que tiene baja toxicidad y su uso es como un producto formulado en nano emulsiones a fin de mejorar su biodisponibilidad (16).

A nivel in vitro se ha identificado que el AE de romero presenta actividad antimicótica sobre *M. canis*; para ello se trabajó con aislados de *M. canis* de muestras clínicas de animales domésticos menores, el AE de romero que se extrajo por el método de arrastre a vapor de agua. Se cultivó *M. canis* en agar Sabouraud dextrosa + cloranfenicol (17), y enfrentadas a diferentes concentraciones desde 250 hasta 100000 ppm, utilizando control positivo de solución de ketoconazol al 1% y como control negativo solución salina estéril resultando que este hongo es sensible a partir de la concentración de 50000ppm (18).

Se ha reportado que el AE de *Salvia officinalis* “salvia”, *Coriandrum sativum* “cilantro”, *R. officinalis* “romero”, *Nigella sativa* “comino negro”, *Juniperus oxycedrus* “enebro espinoso”, *Pelargonium graveolens* “geranio”, *Origanum vulgare* “orégano” y *Artemisia herba alba* “ajenjo”, tienen efecto inhibitorio sobre la activación de NF-kB (19), (proteínas que controlan funciones de crecimiento y la supervivencia celular), por lo que se espera que todos los AE, incluido el de estudio en nuestra tesis tiene efectos similares con menor porcentaje. Se ha evaluado concentraciones de hasta 0,25 μ L/mL sobre macrófagos humanos THP-1 que portan el indicador de NF-kB; Encontrándose que el AE de cilantro, geranio y ajenjo son muy activos disminuyendo hasta más del 50 % la expresión del ARNm de IL-6, IL-1 β , TNF- α y COX-2 en macrófagos THP-1 estimulados con LPS; los AE de las plantas anteriormente descritas inhiben >50 % de la actividad de la caspasa-1; por

lo que los AE son efectores antiinflamatorios al educir mediadores inflamatorios involucrados en la génesis de varias enfermedades (20).

M. canis es un dermatofito que causa alopecia multifocal, descamación y lesiones circulares en animales y humanos, con distintos tratamientos y con un fracaso de los mismos mayor al 40%. La falta de métodos de susceptibilidad fúngica para *M. canis* no permite evaluar las tasas de resistencia farmacológica; por ello en enfermedades extensas un tratamiento exitoso requiere el uso simultáneo de medicamentos antimicóticos tópicos y sistémicos (21).

La infección por *M canis* también es un problema en el campo de la salud ocupacional, ya que se ha reportado que criadores de gatos han sido afectados e inclusive contagiando a sus menores hijos. En este estudio se encontró según la técnica de cepillo que 158 gatos el (35%) fueron positivo *M. canis*, además es altamente transmisible entre gatos (22). También se ha reportado en muestras de pelo de gato con y sin lesiones cutáneas, por la técnica de Mackenzie, el 31,16% dieron positivo al examen con KOH al 10 %, los que fueron cultivados para la identificación micológica respectiva; encontrándose por electroforesis y reacción de cadena de polimerasa (PCR), que el 13,04% estaban infectados con *M. canis* (23).

Trabajos con *R. officinalis* muestran actividades de antioxidante, antidiabética, antiinflamatoria, antitrombótica, hepatoprotectora y anticancerígena; para ello se ha estudiado los efectos del AE de romero sobre alteraciones renales bioquímicas, histológicas e inmunohistoquímicas en ratas inducidas por estreptozotocina (STZ), observándose una disminución del daño renal causado por diabetes, debido a la acción antioxidante, antiinflamatoria, anti apoptótica, proliferativa y anti hiperglucémica. En otro grupo experimental conformado por la combinación de insulina y AE de romero genero la recuperación de la glucosa sérica, la función renal, los marcadores antioxidantes y la histología de la corteza renal; por lo que el AE de *R. officinalis* presenta efectos nefro protectores en diabetes (24).

Por otro lado, también se reporta que *R. officinalis* presenta importantes efectos clínicos sobre el estado de ánimo, el aprendizaje, la memoria, el dolor, la ansiedad y el sueño; esto debido a que el AE presenta propiedades antiinflamatorias,

analgésicas, ansiolíticas y estimulante de la memoria cuyos responsables de estas acciones serían especialmente el ácido carnósico, ácido rosmarínico (25).

Al evaluar los efectos potenciales de diferentes extractos de romero sobre la función inmune humana, existe poca evidencia en humanos para apoyar este efecto positivo. Se ha encontrado el potencial del romero radica en sus principales componentes activos ya que actúan como ingredientes dietéticos con función inmunomoduladora (26).

Los efectos de los AE en concentraciones 0,5 y 1% de extractos de *R. officinalis*, *Cinnamomum verum*, *Citrus paradisi* y *Capsicum annuum* sobre el crecimiento de *Rhizopus stolonifer*, *Trichophyton mentagrophytes*; por otro lado, la combinación de estos AE en la concentración del 0,5 % sobre el crecimiento de *Microsporum gypseum*, a los 7, 14 y 21 días de incubación, se encontró que la combinación de los AE muestran una inhibición del crecimiento similar a los presentados por *R. officinalis*, *C. verum* y *C. paradisi* de manera individual y estos últimos AE pueden ser usados en el tratamiento tópico de enfermedades fúngicas oportunistas y dermatofitos (27).

En un trabajo donde se compara el efecto de un champú con AE de *Thymus serpyllum* (2%), *O. vulgar* (5%) y *R. officinalis* (5%) y otro con miconazol/clorhexidina, ambos grupos fueron tratados con itraconazol oral a una dosificación de 5 mg/kg/día por 6 semanas; Encontrándose como resultado la curación completa en la semana 11 del tratamiento sin mostrar efectos adversos, siendo mayor la Velocidad de resolución en las áreas lesiones focales; por ello dichos autores proponen a los AE como una importante alternativa natural al tratamiento tópico convencional (28).

Los AE obtenidos de *Eucalyptus globulus*, *O. vulgare*, *R. officinalis*, *Litsea cubeba*, *F. vulgare* y otros más, mostraron notables diferencias en el efecto sobre el crecimiento de dermatofitos; así, los AE más efectivos fueron de *O. vulgare* (rango MIC 0,025%-0,5%) y de *Litsea cubeba* (rango MIC 0,025%-1,5%). *F. vulgare* mostró una eficacia moderada contra *M gypseum* (29).

La actividad de los extractos de *R. officinalis. vulgaris*, y *O. majoran* contra, *M canis*, *T. mentagrophytes* *T. rubrum*, *T. tonsurans*, *M. gypseum* y *E. floccosum* fue determinada mediante ensayo de difusión en agar; encontrándose que el aceite de *T. vulgaris*, inhibió completamente el crecimiento de los dermatofitos en estudio. Por otro lado, los AE de *T. vulgaris* están constituidos por moléculas tales como o-cimeno, μ -terpineno, timol y carvacrol; los de *R officinalis*, por terpinen-4-ol y 1,8-cineol; y los de *O. majorana*, por terpinen-4-ol y timo (30).

También se ha reportado en un estudio que incluye a 14 AE con actividad antifúngica según el método de dilución en agar, sobre el crecimiento micelial de *M. gypseum*, *M. canis*, *T. mentagrophytes*, *T. violaceum*, *Aspergillus niger*, *Scopulariopsis brevicauli* aislados de piel de perro; se encontró que el mayor efecto sobre los hongos en estudio fue el AE de canela, tomillo, clavo, geranio y manuka. El efecto más fuerte sobre los hongos dermatomicetos fue de cinamaldehído, Y los componentes de los AE más activos fueron el timol y carvacrol con valores de 0,039-1,25 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ (MIC) y 0,078-1,25 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ (MFC). Estos resultados permiten su aplicabilidad de los AE como alternativas a los productos farmacológicos comerciales en la lucha con la dermatofitosis animal y humana (31).

La tiña, ha sido consideraba como una infección cutánea menor y de fácil tratamiento superficial; sin embargo, en los últimos tiempos su tratamiento plantea nuevos desafíos. Como se sabe la dermatofitosis es una infección fúngica superficial del tejido queratinizado (piel, cabello y uñas) por los dermatofitos: *Trichophyton* *Epidermophyton* y *Microsporum*. Los métodos de diagnóstico de laboratorio ahora se han fundamentado mediante la caracterización molecular (32).

Se ha formulado una loción capilar al 1 % del extracto metanolico de *R. officinalis* con la finalidad del posible crecimiento del pelo en ratones; en el extracto se ha identificado proteínas, aminoácidos, grasas y aceites, esteroides, glucósidos, compuestos fenólicos, flavonoides, aceite volátil y vitaminas; para control se ha utilizado una solución acuosa de minoxidil al 2% como estándar; encontrándose

que la loción capilar permitió buen crecimiento del pelo en relación con estándar (33).

R. officinalis (romero) es una planta doméstica común con hojas en forma de aguja y flores blancas que pertenece a la familia Lamiaceae (34). Esta planta medicinal originaria de la región mediterránea y cultivada en todo el mundo *R. officinalis*. está constituida por moléculas bioactivas, los fitocompuestos, responsables de implementar diversas actividades farmacológicas, como antiinflamatoria, antioxidante, antimicrobiana, antiproliferativa, antitumoral y protectora, inhibitoria y atenuante (35), y analgésico, ansiolítico y estimulante de la memoria. A su vez evidencia una nueva percepción para futuras investigaciones sobre constituyentes aislados, especialmente ácido carnósico, ácido rosmarínico (36).

El AE de *R officinalis*, es una mezcla compuesta de metabolitos secundarios derivados de plantas, exhibe actividad antifúngica contra especies de *Candida virulentas* (37). Químicamente, el aceite de romero (obtenido por destilación al vapor) comprende 1,8-cineol (20–50 %), α -pineno (15–25 %), alcanfor (10–25 %), acetato de bornilo (1–5 %), borneol (1–6 %), canfeno (5–10 %), α -terpineol (12–24 %), limoneno, β -pineno, β -cariofileno y mirceno (38).

El mecanismo de acción AE en microorganismos se desconoce a fondo, se dice que los componentes de AE, posee propiedades lipofílicas, destruyendo las paredes celulares y la membrana citoplasmática de bacterias y hongos, logrando fuga del citoplasma y su coagulación. Los AE inhiben la síntesis de ADN, ARN, proteínas y polisacáridos en las células de hongos y bacterias. Además, también pueden dificultar la producción de enzimas o inhibirlas (39).

El romero con múltiples usos y propiedades y utilizado en la cosmetología, gastronomía, conservante de alimentos, estimulante capilar, como aroma de perfumes y fragancias, aditivo de shampoo, crema y jabón, uso como colorantes naturales de enjuagues bucales y perfumes. Su potencial antioxidante controla la oxidación de lípidos de los alimentos interrumpiendo las reacciones generadas por

los radicales libres, siendo utilizados en la preservación de alimentos procesados (40).

A su vez A.E desde la antigüedad los AE se usan en balneoterapia y aromaterapia, así como en la vía tópica como antiséptico y cicatrizante de heridas, y como rubefaciente, analgésico y antiparasitario y crecimiento capilar (41).

La dermatofitosis por *M. canis* es de transmisión directo o indirecta, por pelo, piel o costras contaminadas o por contacto de material contaminado con fómites, de un portador asintomático o sintomático respectivamente, siendo el gato el principal portador (42), los animales asintomáticos propagan hasta un 50 % la infección a humanos (43). Ciertas circunstancias favorecen estas infecciones siendo la humedad, hábitos higiénicos no favorables, el hacinamiento, también el uso, de duchas comunitarias, de calzado cerrado, ropa sintética, etc. (44).

Entre los años 2015-2022 se muestra estabilidad en la incidencia de *M. canis* zoofílico, *Trichophyton violaceum* antropofílico y *Trichophyton tonsurans* a nivel global, pero variable entre países (45), con un pico de incidencia entre los 3 y 7 años de edad (46).

En cuanto al tratamiento, es tópico como sistémico con medicamentos como la griseofulvina (Gri), la terbinafina (TER), el itraconazol (IT) y el fluconazol (FLZ), útil en infecciones graves en humanos y animales (47).

III. METODOLOGÍA

3.1. Tipo y diseño de investigación:

3.1.1. Tipo de investigación: Fue básico, ya que el objetivo fue obtener nuevo conocimiento respecto a las variables en estudio (Manual de Frascati OCDE 2002). Según el enfoque fue cuantitativo, caracterizado por el control, manipulación y observación. (Hernández, R. 2014).

3.1.2. Diseño de investigación: Fue experimental, ya que se ha manipulado la variable independiente causando o generando una respuesta diferente en la variable dependiente.

3.2. Variables y operacionalización

Presentaron dos variables

- **Variable independiente:** Las diferentes concentraciones del aceite esencial de *R. officinalis*.
- **Definición conceptual:** El AE de romero es un líquido incoloro o de color amarillo pálido, del mismo olor de la planta, con actividad antioxidante y antimicrobiano por método de destilación. (48)
- **Definición operacional:** Es el número de grupos, seis en total cuatro a concentraciones diferentes 0.05,0.10,0.20,0.40 y un control del crecimiento del hongo (0%)
- **Indicadores:**

AE (V/V)

- **Escala de medición:**

Intervalo

- **Variable dependiente:** El crecimiento de *M. canis*, in vitro.

- **Definición conceptual:**

Dermatofito *M. canis* de crecimiento micelial lento de Agar Sabouraud

- **Definición operacional:**

Es la siembra por puntura central en medio ASD + Antibiótico y medida del diámetro del micelio al 6,8,10,12,14,16,18,21 días

- **Indicadores:**

$$\%C = \frac{\text{diametro del micleo problema}}{\text{diametro promedio del micleo control negativo}} \times 100$$

- **Escala de medición:**

Intervalo

Matriz de operacionalización de variables: Ver con más detalle el ANEXO 2

3.3. Población, muestra y muestreo:

3.3.1 Población

Estuvo constituida por:

- Cultivo de *M. canis* donado por el departamento técnico de Microbiología de la Facultad de Ciencias Médicas.
- Aceite esencial de *R. officinalis* obtenido por el método de destilación por arrastre de vapor de agua.

Obtención de la planta: Las plantas de *R. officinalis* fueron recolectadas en el Distrito de la Arena. Para ello éstas fueron segadas entre 5 y 10 cm sobre la tierra, durante el mes de agosto.

- **Criterios de inclusión:** Cultivo monospórico de *M. canis*.
- **Criterios de Exclusión:** cultivo de *M. canis* contaminado.

3.3.2. Muestra:

Alícuotas de 5,10,20,40 μ l del aceite esencial de *R. officinalis* obtenido por el método de destilación por arrastre de vapor de agua.

Cultivo de *M. canis* donado por el departamento técnico de Microbiología de la Facultad de Ciencias Médicas

3.3.3. Muestreo:

El muestreo para la recolección de la planta fue dirigida u orientada a aquellas que estaban próximas a florecer, durante el mes de agosto 2023. Las plantas se seleccionaron por conveniencia, de una forma no pirobalística, no aleatoria.

Ubicación del sitio de muestreo: El distrito la Arena está ubicado en las coordenadas Latitud: 5° 20' 48" Sur y Longitud: 80° 42' 39" Oeste, y se encuentra a una altitud de 22 m.s.n.m.

Ubicación del área de estudio: La presente investigación se ha realizado en el laboratorio de Productos Naturales del departamento académico de Química Biológica y Fisiología Animal, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional de Trujillo.



Figura. 1 Localización del distrito de la Arena

3.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

Se preparó una matriz Excel en la cual se incluyeron las variables en estudio. La recolección de datos estuvo basada en la observación directa y la medición del crecimiento micelial en cm de cada concentración de AE de *R. officinalis*, en las placas respectivas, dicha medición fue a través del calibrador de vierner, utilizándose ficha de recolección de datos para evaluación por cada concentración.

3.5. Procedimientos

3.5.1 Obtención del Aceite esencial

La obtención del AE de *R. officinalis*, se realizó en el laboratorio de Productos Naturales del Departamento Académico de Química Biológica y Fisiología Animal, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional de Trujillo, utilizando el método por destilación con arrastre de vapor de agua. para lo cual se seleccionarán hojas y

tallo sin presencia de agentes externos propios de la planta y sin lesiones, ni cortes ni magulladuras (49).

Se trabajó con 2 kg de hojas y tallo de *R. officinalis* y se colocó en el equipo de extracción de aceites esenciales sobre la fuente generadora de vapores. Se destiló por un periodo de 15 minutos y los AE obtenidos se colocaron en un frasco de color ámbar, debidamente rotulado con su nombre taxonómico, se conservó a 4°C hasta el momento de su utilización en el trabajo de tesis (50).

La obtención del rendimiento de extracción del aceite esencial de *R. officinalis* se realizó según a siguiente fórmula, se utilizó la norma técnica Peruana N° (NTP 319.079)

$$\% \text{ Rendimiento AE} = \frac{(\text{mL aceite esencial})}{(\text{Peso gramos del material vegetal})} \times 100$$

3.5.2. Obtención del cultivo monospórico de *M. canis*

Se procedió a reactivar el hongo en estudio donado por el departamento técnico de microbiología de la facultad de medicina de la Universidad Nacional de Trujillo (UNT); para ello se sembró un fragmento de micelio por puntura central en un medio ASD y se incubó a temperatura ambiente (25 ± 2 °C) hasta por 12 días. Este micelio es denominado cultivo monospórico de *M. canis* y que sirvió para los ensayos siguientes. (50) (51).

3.5.3 Efecto de la concentración del aceite esencial de *R. officinalis* sobre el crecimiento de *M. canis*

Se prepararon concentraciones de AE de *R. officinalis* en solución de tweed 80 al 0.1 % y se añadió en concentración final de 0.05, 0.10, 0.20 y 0.40% en placas Petri que luego se les añadió el medio ASD, se homogenizó suavemente y se dejó solidificar; luego se sembró por

puntura central en dermatofito en estudio se incubó a temperatura ambiente (25 ± 2 °C) hasta 21 días, evaluando y midiendo el crecimiento diametral micelial en cm a partir del tercer día en cada uno de los tratamientos.

Cada ensayo se repitió por triplicado para asegurar la reproducibilidad, validez y confiabilidad de los resultados guardando todas las medidas de bioseguridad.

Porcentaje de crecimiento micelial.

$$\%C = \frac{\text{diametro del micleo problema}}{\text{diametro promedio del micleo control negativo}} \times 100$$

3.6. Método de análisis de datos

Se determinó el efecto del aceite esencial de *R. officinalis* sobre el crecimiento de *M. canis* in vitro, llevando cabo un análisis en la medición del crecimiento micelial expresado en cm del crecimiento de *M. canis* a diferentes concentraciones de aceite esencial. Se utilizó una estadística simple de media para control mas no ninguna prueba para estudiar el nivel de significancia del tratamiento, en ninguno de las cuatro placas con las concentraciones de aceite esencial de *R. Officinalis* de 0.05,0.10,0.20, 0.40 % respectivamente se observó crecimiento.

3.7. Aspectos éticos:

En el presente trabajo se tuvo en cuenta el principio de:

Beneficencia, que busca en si maximizar beneficios, basándose en este principio, el laboratorio que donó el dermatofito en estudio, se le hará llegar los resultados de esta investigación (52).

Autonomía, tuvo como principal propósito el respeto a las personas (53). La donación del *M. canis* por parte del Laboratorio se realizó libremente a solicitud de los interesados y se presenta la carta de donación firmada. ANEXO 3

Justicia, lo justo lo bueno y lo correcto, por tanto, en este contexto es que las personas pueden ser beneficiadas con los resultados de la presente investigación (54), ya que la concentración más baja del AE que inhibe el crecimiento micelial de *M. canis* puede ser utilizado como tratamiento tópico directo en afecciones por dermatofitos.

No maleficencia, el desarrollo de este trabajo de investigación que termina en el presente informe de tesis no ha ocasionado daño al investigador, al ambiente ni a la estructura de la Universidad por lo que no ha existido ningún peligro ni riesgo en la ejecución de la presente tesis. (55).

IV. RESULTADOS

Se encontró que el rendimiento de extracción de aceite esencial de *R. officinalis*, por el método de destilación por arrastre de vapor de agua fue 0,84 % y que la concentración igual o mayor del 0,05% inhibe completamente el crecimiento micelial de *M. canis*, in vitro

Tabla 1: Efecto de diferentes concentraciones de aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* sobre el crecimiento de *Microsporum canis*, in vitro; expresado en centímetros de diámetro de la colonia micelial. de acuerdo a los días de medición, en el control negativo de crecimiento mayor en promedio se observa en el día 21. Y en los controles con el aceite esencial no se observa crecimiento a concentración mínima de 0.05% y concentración máxima 0.40 %.

[ul/10mL]	Crecimiento micelial (cm) - días								
	%	6	8	10	12	14	16	18	21
0.00 (control)	0.00	0.6	1.20	1.80	2.20	3.20	4.00	4.60	5.60
		0.6	1.20	1.70	2.30	3.30	4.00	4.80	5.70
		0.5	1.20	1.80	2.30	3.20	4.10	4.80	5.60
		0.6	1.10	1.80	2.30	3.30	4.00	4.70	5.60
		0.6	1.20	1.70	2.20	3.30	4.00	4.80	5.60
	(X)	0.58	1.18	1.76	2.26	3.26	4.02	4.74	5.62
5.00	0.05	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
10.00	0.10	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
20.00	0.20	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
40.00	0.40	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

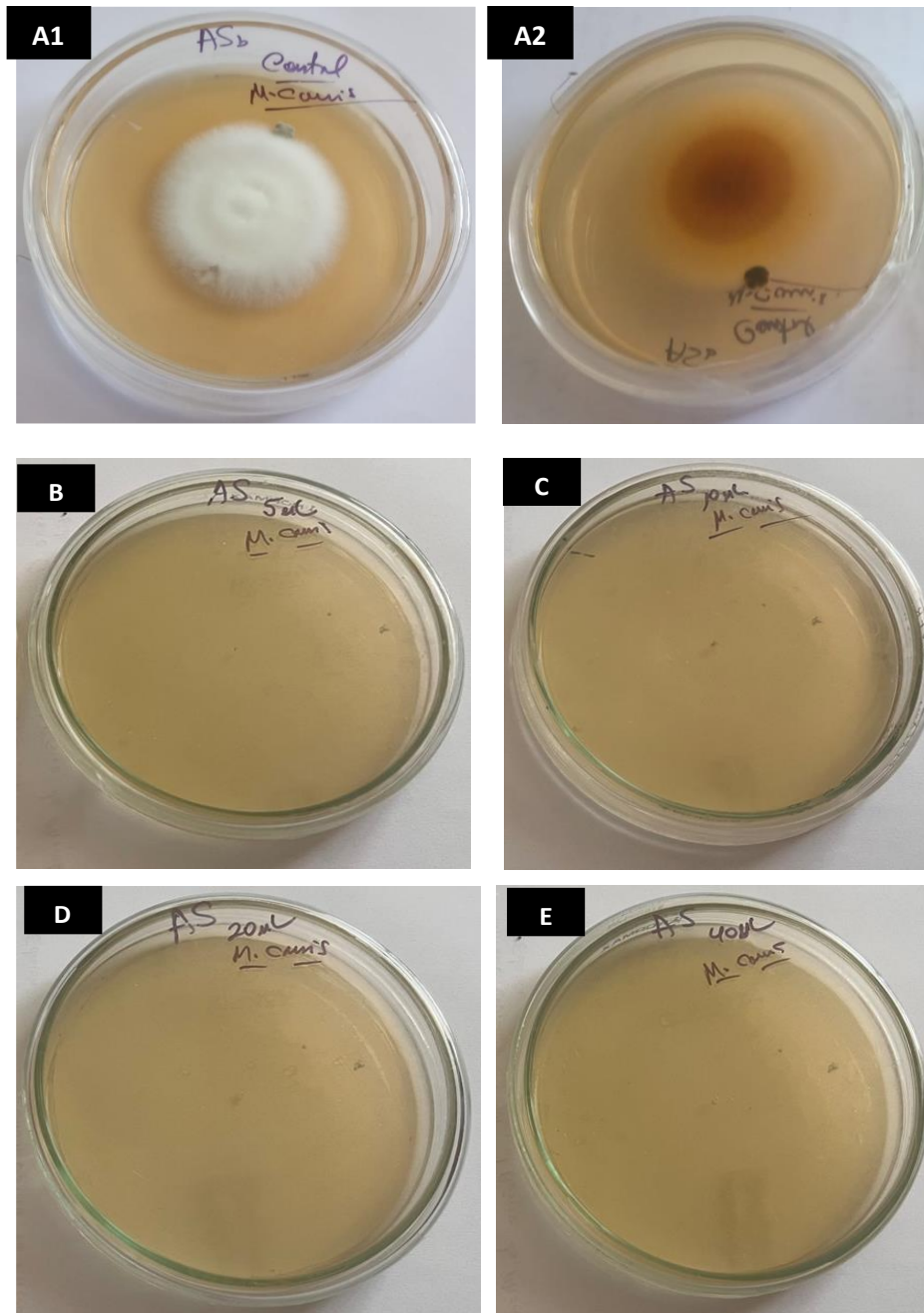


Figura N°. 2 Crecimiento micelial de *M. canis*, en agar Sabouraud dextrosa a los 21 días de incubación a 25 ± 2 °C, en el control y en las diferentes concentraciones del aceite esencial de *R. officinalis* ensayadas.

Donde:

A1= crecimiento micelial en el anverso de la placa; A2= crecimiento micelial en el reverso de la placa; B= 0.05%; C= 0.10%; D= 0,20%; E= 0,40%, son concentraciones del aceite esencial de *R*.

Fuente: Fotografías propias del autor. Alan Rony Huaman Andía.

V. DISCUSIÓN

En la presente investigación, la tabla 1 y Figura 2 se puede observar que el aceite esencial de *R. officinalis* inhibió completamente el crecimiento de *M. canis* en todas las concentraciones ensayadas (0.05, 0.10, 0.20 y 0.40%). Esto probablemente se debe a la naturaleza no polar que presentan los aceites esenciales generando un fuerte daño a nivel de membranas ya que permeabiliza dichas membranas y con ello produce filtración del material celular ocasionando la muerte del organismo en estudio.

La acción fungicida del aceite esencial de *R. officinalis* ha sido reportada en varios artículos (56). Se ha encontrado que dicho aceite esencial presenta un MIC (concentración mínima inhibitoria) de 90 µg/mL para *Cándida albicans*, de 120 µg/mL para *Rhodotorula glutinis*, de 60 µg/mL para *Schizosaccharomyces pombe*, de 180 µg/mL para *Saccharomyces cerevisiae* y de 120 µg/mL para *Yarrowia lipolytica*; siendo el componente principal la verbenona. (57)

En otro artículo, se muestra que el aceite esencial de *R. officinalis* presenta un MIC de 1000 µg/mL para *Aspergillus niger*, e inhibe el crecimiento micelial de *Fusarium verticillioides*, del 17% en la concentración de 150 µg/mL y un 67% en la concentración de 600 µg/mL un 67% utilizando como control positivo la nistatina que inhibe un 79% (58)

Ciertos agentes antifúngicos inhiben el crecimiento celular interrumpiendo la biosíntesis de ergosterol, que resulta de la unión de dichos antifúngicos con el ergosterol a nivel de la membrana celular. Esto podría deberse a que en este proceso se podría estar afectando la estructura y la función de ciertas proteínas de membrana generando trastornos osmóticos e interrupción del crecimiento celular (59) Por otro lado, los aceites esenciales de *R. officinalis* son probablemente capaces de activar mecanismos semejantes a los antifúngicos comerciales como la nistatina, ya que se ha encontrado que 1000 µg/mL produce menor inhibición de ergosterol que una concentración de 600 µg/mL del aceite esencial en estudio cuando los cultivos fueron Incubados durante 14 días a 25°C (60).

Los resultados obtenidos en el presente trabajo de tesis, son muy superiores (0.05% de la concentración del aceite esencial) a los publicados por otros autores utilizando el mismo dermatofito de estudio, pero que fue aislado a partir de muestras clínicas veterinarias; mostrando una sensibilidad in vitro en las concentraciones de 50 000 y 100 000 ppm ($\mu\text{L/L}$) de aceite esencial de *R. officinalis* que es igual a 50 y 100 $\mu\text{L/mL}$ (5 y 10%) respectivamente. (61), además, es importante resaltar que la metodología utilizada para demostrar el efecto del aceite esencial fue diferente a la utilizada en la presente tesis.

Como se sabe, el constante incremento en los precios de los antifúngicos comerciales, una economía paupérrima de la población en general, hacen de este trabajo de tesis un potencial importante en la aplicación directa del aceite esencial de *R. officinalis* como tratamiento tópico de dermatofitos; ya sea preparado como una loción, ungüento o directamente líquido a fin de disminuir costos en la producción; ya que la dermatomicosis son un problema que afecta la estética, que en las estaciones calurosas y húmedas (como lo es el verano) se convierte en una micosis de importancia a tomar en cuenta.

Hasta la actualidad no existe un buen registro y menos aún un buen diagnóstico en cuanto a esta enfermedad, motivo por el cual no hay datos exactos en nuestra región sobre la prevalencia de casos y su morbimortalidad.

Los AE, con múltiples propiedades curativas, el trabajo de esta investigación prueba una vez más que vía tópica tienen un excelente beneficio en el inicio del dermatofito. (40).

Finalmente, según los resultados encontrados, in vitro, el aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* puede ser utilizado como producto alternativo en el tratamiento de dermatomicosis, por lo que habría que realizar investigaciones in vivo con el mismo aceite esencial y a concentraciones más bajas.

VI. CONCLUSIONES

Se concluye que:

1. Concentraciones iguales y mayores de 0.05% del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* tienen efecto inhibitorio del crecimiento de *Microsporum canis*, in vitro.
2. A través de la extracción del Aceite Esencial y su aplicación a diferentes concentraciones menores a 0.40% muestran una inhibición por completo sobre el crecimiento de *M. canis*.
3. Concentraciones mínimas de 0.05% del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* podría ser una importante alternativa a utilizar para tratar dermatomicosis como las producidas por *Microsporum canis*.

VII. RECOMENDACIONES

Se recomienda realizar ensayos con concentraciones igual o menores a 0,05% a fin de obtener una concentración mínima e ideal que inhiba el crecimiento de *M. canis*, in vitro.

Realizar ensayos, previo consentimiento informado, con pacientes infectados con dermatofitos, a fin de obtener una aplicación directa que inhiba de manera eficaz el desarrollo de dicho hongo.

REFERENCIAS

1. Babba Z, Shehu M, Ukonu B, Ibekwe P. Características dermatoscópicas vistas en Tiña Capitis, Tiña Corporis y Tiña Cruris. [Online]. 2023 [Citado 29 de Mayo 2023]; Disponible en: [PMID: 37245212](#).
2. Capote A, Ferrara G, Panizo M, García N, Alarcón V, Reviakina V, Dolande M. Micosis superficiales: casuística del Departamento de Micología del Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel", Caracas, Venezuela (2001-2014). [Online]. 2016 [citado 13 de Junio 2023]; Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27382801/>.
3. Odiaga K. Frecuencia de dermatofitosis: Canis lupus familiaris y Felis catus en el distrito de Piura 2022. [Online]. 2022 [citado 15 de Mayo 2023]; Disponible en: <https://repositorio.unp.edu.pe/handle/20.500.12676/4101?locale-attribute=en>.
4. Blanchard M, Norrenberg S, Monod M, Morren M, Guenova E. Tinea capitis: nuevos conocimientos sobre una vieja enfermedad. [Online]. 2023 [citado 29 de Junio 2023]; Disponible en: doi.org/10.53738/revmed.2023.19.820.618.
5. Leung A, Hon K, Leong K, Barankin B, Lam J. Tiña capitis: una revisión actualizada. [Online]. 2020 [citado 16 Mayo 2023]; Disponible en: <https://doi.org/10.2174/1872213x14666200106145624>.
6. Mtibaa L, Rabhi F, Abderrahim A, Baccouchi N, Jaber K, Fares H, Dhaoui A, Jemli . Tinea capitis: estudio epidemiológico en Túnez de 2012 a 2020. [Online]. 2022 [citado 16 de Mayo 2023]; Disponible en: <https://doi.org/10.11604%2Fpamj.2022.41.168.29473>.

7. Nenoff P, Krüger C, Ginter-Hanselmayer G, Tietz H. Micología - una actualización. Parte 1: Dermatomicosis: agentes causales, epidemiología y patogenia. [Online]. 2014[citado 23 de Mayo de 2023]; Disponible en: <https://doi.org/10.1111/ddg.12245>.
8. Leesombun A, Thanapakdeechaikul K, Suwannawiang J, Mukto P, Sungpradit S, Bangphoomi N, Changbunjong T, Thongjuy O, Weluwanarak T, Boonmasawai S. Efectos del aceite esencial de *Coleus amboinicus* L. y extractos etanólicos sobre las células planctónicas y la formación de biopelículas de *Microsporum canis* aislado de dermatofitosis felina. [Online]. 2021[citado 30 de Mayo de 2023]; Disponible en: <https://doi.org/10.3390/antibiotics11121734>.
9. Wani A, Yadav K, Khursheed A, Rather M. Una revisión actualizada y exhaustiva del potencial antiviral de los aceites esenciales y sus componentes químicos, con especial atención a su mecanismo de acción contra varios tipos de influenza y coronavirus. [Online]. 2021[citado 30 de Mayo de 2023]; Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2020.104620>.
10. Raskovic A, Milanovic I, Pavlovic N, Čebović T, Vukmirovic S, Mikov M. Una revisión actualizada y exhaustiva del potencial antiviral de los aceites esenciales y sus componentes químicos, con especial atención a su mecanismo de acción contra varios tipos de influenza y coronavirus. [Online]. 2014[citado 07 de Junio de 2023]; Disponible en: <https://doi.org/10.1186/1472-6882-14-225>.
11. Gallegos M. Las plantas medicinales: principal alternativa para el cuidado de la salud, en la población rural de Babahoyo, Ecuador. [Online]. 2016[citado 13 de Junio de 2023]; Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/afm/v77n4/a02v77n4.pdf>.
12. Andrade J, Faustino C, Garcia C, Ladeiras D, Reis C, Rijo P. *Rosmarinus officinalis* L.: revisión actualizada de su fitoquímica y actividad biológica.

[Online]. 2018 [citado 01 de Junio 2023]. Disponible en: <https://doi.org/10.4155/fsoa-2017-0124>.

1 .Odiaga K. Frecuencia de dermatofitosis en *Canis lupus familiaris* y *Felis catus*
3. en el distrito de Piura 2022. [Online]. 2022 [Citado 07 de Junio 2023]; Disponible
en: [https://repositorio.unp.edu.pe/handle/20.500.12676/4101?locale-
attribute=en](https://repositorio.unp.edu.pe/handle/20.500.12676/4101?locale-attribute=en).

1 .Corroto F, Rascón J, Barboza E, Macía M. Plantas medicinales para ricos
4. versus plantas medicinales para pobres: un estudio de caso de los Andes
peruanos. [Online]. 2021 [Citado 14 de Junio 2023]; Disponible en:
<https://doi.org/10.3390/plants10081634>.

1 .Villanueva L. Efecto antifúngico del aceite esencial de *Thymus vulgaris*
5. comparado con con Terbinafina sobre *Microsporum canis*. [Online]. 2020
[Citado 14 de Junio 2023]; Disponible en:
<https://repositorio.ucv.edu.pe/handle/20.500.12692/60388>.

1 .Borges R, Ortiz B, Pereira A, Keita H, Carvalho J. Aceite esencial de
6. *Rosmarinus officinalis*: una revisión de su fitoquímica, actividad antiinflamatoria
y mecanismos de acción involucrados. [Online]. 2019 [Citado 07 de Junio 2023];
Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2018.09.038>.

1 .Zurita S. cultivo y tipificación de hongos filamentosos. MANUAL DE
7. PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS PARA EL DIAGNÓSTICO MICOLÓGICO.
PERU; 2017. p. 23-25.

1 .Dentone S. Determinación in vitro de la actividad antimicótica del aceite de
8. romero sobre el *Microsporum canis*. [Online]. 2015 [Citado 06 de Junio 2023];
Disponible en: <https://hdl.handle.net/20.500.12805/435>.

1 .Aldecoa F. El factor de transcripción nuclear NF- κ B en cáncer. [Online]. 2023
9. [Citado 03 de Mayo 2023]; Disponible en:
<http://dx.doi.org/10.24265/horizmed.2023.v23n1.12>.

- 2 . Pereira R, Rahali F, Nehme R, Falleh H, Jemaa M, Sellami I, Ksouri R, Bouhallab
0. S, Cecilian F, Abdennebi-Najar L, Pereira D. Actividad antiinflamatoria de los
aceites esenciales de plantas aromáticas y medicinales tunecinas y sus
principales componentes en los macrófagos THP-1. [Online]. 2023 [Citado 15
de Junio 2023]; Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2023.112678>.
- 2 Aneke C, Otranto D, Cafarchia C. Terapia y perfil de susceptibilidad antifúngica
1. de *Microsporium canis*. [Online]. 2018 [Citado 14 de Junio 2023]; Disponible en:
<https://doi.org/10.3390/jof4030107>.
- 2 Watanabe M, Tsuchihashi H, Ogawa T, Ogawa Y, Komiyama E, Hirasawa
2. Y, Hiruma M, Kano R, Ikeda S. Infección por *Microsporium canis* en una familia de
criadores de gatos y una investigación de sus gatos reproductores. [Online].
2022 [Citado 17 de Mayo 2023]; Disponible en: <https://doi.org/10.3314/mmj.22-00015>.
- 2 Chupia V, Ninsuwon J, Piyarungsri K, Sodarath C, Prachasilchai
3. W, Suriyasathaporn W, Pikulkaew S. Prevalencia de *Microsporium canis* en
gatos domésticos en hospitales para animales pequeños, Chiang Mai,
Tailandia. [Online]. 2022 [Citado 15 de Mayo 2023]; Disponible en:
<https://doi.org/10.3390/vetsci9010021>.
- 2 Fareed S. Yousef E, Abd El-Moneam S. Evaluación de los efectos del aceite
4. esencial de romero en la patología renal de ratas albinas macho adultas
diabéticas. [Online]. 2023 [Citado 17 de Junio de 2023]; Disponible en:
<https://doi.org/10.7759/cureus.35736>.
- 2 Ghasemzadeh Rahbardar M, Hosseinzadeh H. Efectos terapéuticos del romero
5. (*Rosmarinus officinalis* L.) y sus componentes activos en los trastornos del
sistema nervioso. [Online]. 2020 [Citado 23 de Junio 2023]; Disponible en:
doi.org/10.22038/ijbms.2020.45269.10541.
- 2 Ahmed H, Babakir-Mina M. Investigación de extractos de hierbas de romero
6. (*Rosmarinus officinalis*) y sus efectos potenciales sobre la inmunidad.

- [Online].2020[Citado 22 de Junio 2023]; Disponible en: doi.org/10.1002/ptr.6648.
- 2 Maness L, Zubov T. El efecto inhibitor de los aceites esenciales sobre *Rhizopus* 7. *stolonifer*, *Trichophyton mentagrophytes* y *Microsporum gypseum*. [Online]. 2019 [Citado 12 de Mayo 2023]; Disponible en: <https://doi.org/10.1093/labmed/lmy080>.
- 2 Nardoni S, Costanzo A, Mugnaini L, Pisseri F, Rocchigiani G, Papini R, 8. Mancianti F. Estudio de campo abierto que compara un champú a base de aceite esencial con miconazol/clorhexidina para la desinfección del pelaje en gatos con microsporiosis espontánea. [Online]. 2017[Citado 02 de junio 2023]; Disponible en: <https://doi.org/10.1177/1098612x15625709>.
- 2 Nardoni S, Giovanelli S, Pistelli L, Mugnaini L, Profili G, Pisseri F, Mancianti F. 9. Actividad in vitro de veinte aceites esenciales derivados de plantas comercialmente disponibles contra especies seleccionadas de dermatofitos. [Online].2015[Citado 04 de junio 2023]; Disponible en: <https://journals.sagepub.com/doi/10.1177/1934578X1501000840>.
- 3 Guerra-Boone L, Alvarez-Román R, Salazar-Arandav R, Torres-Cirio A, Rivas- 0. Galindo V, de-Torres N, González G, Pérez-López L. Actividades antimicrobianas y antioxidantes y caracterización química de aceites esenciales de *Thymus vulgaris*, *Rosmarinus officinalis* y *Origanum majorana* del noreste de México. [Online]. 2015[Citado 15 de Mayo 2023]; Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25631514/>.
- 3 Michalczyk A, Ostrowska P. Aceites esenciales y sus componentes en la lucha 1. contra patógenos fúngicos de la piel animal y humana. [Online]. 2021[Citado 06 de Mayo 2023]; Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.mycmed.2021.101118>.
- 3 Thakur R, Kalsi A. Brotes y epidemias de dermatofitosis superficial debido al 2. complejo *Trichophyton mentagrophytes* y *Microsporum canis* : escenario global

- e indio. [Online].2019 [Citado 12 de Mayo 2023]; Disponible en: <https://doi.org/10.2147/ccid.s220849>.
- 3 Begum A, Sandhya S, Annop K, Syed S. Evaluación de la loción para el cabello
3. a base de hierbas cargada con romero para el posible crecimiento del cabello en ratones C57BL/6. [Online].2023 [Citado 22 de Junio 2023]; Disponible en: https://doi.org/10.4103/abr.abr_306_21.
- 3 Begum A, Sandhya S, Annop K, Syed S. Evaluación de la loción para el cabello
4. a base de hierbas cargada con romero para el posible crecimiento del cabello en ratones C57BL/6. [Online]. 2023[Citado 12 de Junio 2023];Disponible en: https://doi.org/10.4103/abr.abr_306_21.
- 3 de Oliveira J, Camargo S, de Oliveira L. Rosmarinus officinalis L. (romero) como
5. agente terapéutico y profiláctico. [Online]. 2019 [Citado 09 de Junio 2023]; Disponible en: <https://doi.org/10.1186/s12929-019-0499-8>.
- 3 Ghasemzadeh Rahbardar M, Hosseinzadeh H. Efectos terapéuticos del romero
6. (Rosmarinus officinalis L.) y sus componentes activos en los trastornos del sistema nervioso. [Online].2020. [Citado 18 de Juniode 2023]; Disponible en: <https://doi.org/10.22038/ijbms.2020.45269.10541>.
- 3 Shahina Z, Al Homsy R, Price J, Whiteway M, Sultana T, Dahms T. El aceite
7. esencial de romero y sus componentes 1,8-cineol y α -pineno inducen la letalidad dependiente de ROS y la inhibición de la virulencia independiente de ROS en *Candida albicans*. [Online].2022 [Citado 16 de Mayo 2023]; Disponible en: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0277097>.
- 3 Calapai G, Minciullo PL, Miroddi M, Chinou I, Gangemi S, Schmidt R. Dermatitis
8. de contacto como reacción adversa a algunos medicamentos europeos a base de plantas de uso tópico - Parte 3: *Mentha x piperita* - *Solanum dulcamara*. [Online]. 2015[Citado 10 de Mayo 2023]; Disponible en: <https://doi.org/10.1111/cod.12483>.

- 3 Michalczyk A, Ostrowska P. Aceites esenciales y sus componentes en la lucha
9. contra patógenos fúngicos de la piel animal y humana. [Online]. 2021[Citado
18 de Junio 2023]; Disponible en:
<https://doi.org/10.1016/j.mycmed.2021.101118>.
- 4 Flores E, Galindo A, Castañeda A, Narro R. Romero (*Rosmarinus officinalis* L.):
0. su origen, importancia y generalidades de sus metabolitos secundarios.
[Online].2020 [Citado 28 de Mayo 2023]; Disponible en:
http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-888X2020000100212.
- 4 Calapai G, Minciullo P, Miroddi M, Chinou I, Gangemi S, Schmidt R. Dermatitis
1. de contacto como reacción adversa a algunos medicamentos europeos a base
de plantas de uso tópico - Parte 3: *Mentha x piperita* - *Solanum dulcamara*.
[Online]. 2015. [Citado 17 de Mayo 2023]; Disponible en:
<https://doi.org/10.1111/cod.12483>.
- 4 Odiaga K. Frecuencia de dermatofitosis en *Canis lupus familiaris* y *Felis catus*
2. en el distrito de Piura 2022. [Online]. 2022[Citado 17 de Mayo 2023]; Disponible
en: <https://repositorio.unp.edu.pe/handle/20.500.12676/4101?locale-attribute=en>.
- 4 Aneke C, Otranto D, Cafarchia C. Terapia y perfil de susceptibilidad antifúngica
3. de *Microsporum canis*. [Online].2018[Acceso 05 de Junio 2023]; Disponible en:
<https://doi.org/10.3390/jof4030107>.
- 4 Mereles B, Fiedler Y, Bruqueta A, Chade M. Evaluación de la sensibilidad de
4. hongos dermatofitos aislados de muestras clínicas a los antifúngicos. [Online].
2020[Citado 01 de Mayo 2023]; Disponible en:
http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1851-75872020000200014.
- 4 Chen X, Yu J. Características demográficas globales y espectro de patógenos
5. de la tiña capitis. [Online].2023[Citado 04 de Mayo 2023]; Disponible en:
<https://doi.org/10.1007/s11046-023-00710-8>.

4 Leung A, Hon K, Leong K, Barankin B, Lam J. Tinea capitis: una revisión
6. actualizada. [Online]; 2020 [Citado 27 de Mayo de 2023]; Disponible en:
<https://doi.org/10.2174/1872213x14666200106145624>.

4 Amano H, Kishi C, Yokoyama Y, Shimizu A, Anzawa K, Mochizuki T, Ishikawa
7. O. La infección por *Microsporum canis* simula el pénfigo eritematoso. [Online];
2013 [Acceso 17 de Mayo 2023]; Disponible en: <https://doi.org/10.4103/0019-5154.110866>.

4 Vélez B, Pita M, Meza, Moreira K, Pin D, Oyervide A, Riera M. Obtención de
8. aceite esencial de romero con fines cosméticos. [Online]. 2018 [Citado 17 de
Junio 2023] Disponible en: <https://doi.org/10.33412/pri.v10.1.2170>.

4 Vélez B, Pita M, Meza, Moreira K, Pin D, Oyervide A, Riera M. Obtención de
9. aceite esencial de romero con fines cosmético, María Nicole Pita Meza, Karen
Estefanía Moreira Mendoza y colaboradores. [Online]. 2019 [Citado 26 de abril
2023]; Disponible en:

5 <http://portal.amelica.org/ameli/journal/324/3241314005/html/>. Vélez B, Pita
0. M, Meza, Moreira K, Pin D, Oyervide A, Riera M. Obtención de aceite esencial
de romero con fines cosmético, María Nicole Pita Meza, Karen Estefanía Moreira
Mendoza y colaboradores. [Online]. 2019 [Citado 26 de abril 2023]; Disponible
en: <http://portal.amelica.org/ameli/journal/324/3241314005/html/>

51. Zurita S NA. MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS PARA EL
DIAGNÓSTICO MICOLÓGICO. [Online]; 2017. Acceso 18 de junio de 2023.
Disponible en:
https://antimicrobianos.ins.gob.pe/images/contenido/documentos/nacionales/MANUAL_DE_PROCEDIMIENTOS_MICOLOGICOS_INS_PERU.pdf

52. Salud md. Normas técnicas de regulación de ensayos clínicos en seres
humanos. [Online]; 2000. Acceso 18 de Abril de 2023. Disponible en:
http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-

[95532002000100003#:~:text=En%20la%20investigaci%C3%B3n%20donde%20se,autonom%C3%ADa%2C%20justicia%20y%20no%20maleficencia.](http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-95532002000100003#:~:text=En%20la%20investigaci%C3%B3n%20donde%20se,autonom%C3%ADa%2C%20justicia%20y%20no%20maleficencia.)

53.I. A. Aspectos de la Investigación Científica. [Online]; 2002. Acceso 02 de Junio de 2023. Disponible en: [http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-](http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-95532002000100003#:~:text=En%20la%20investigaci%C3%B3n%20donde%20se,autonom%C3%ADa%2C%20justicia%20y%20no%20maleficencia.)

[95532002000100003#:~:text=En%20la%20investigaci%C3%B3n%20donde%20se,autonom%C3%ADa%2C%20justicia%20y%20no%20maleficencia.](http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-95532002000100003#:~:text=En%20la%20investigaci%C3%B3n%20donde%20se,autonom%C3%ADa%2C%20justicia%20y%20no%20maleficencia.)

54.I. A. Aspectos de la Investigación Científica. [Online]; 2002. Acceso 03 de Junio de 2023. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-95532002000100003>

55. A. Aspectos de la Investigación Científica. [Online]; 2002. Acceso 17 de Junio de 2023. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-95532002000100003>

56.laura b. Actividad antifúngica de aceites esenciales y sus compuestos sobre el crecimiento de *Fusarium* sp. [Online]; 2018. Acceso 2018 de 07 de 2018. Disponible en: <http://www.bioline.org.br/pdf?cg08005>

57.laura b. Actividad antifúngica de aceites esenciales y sus compuestos sobre el crecimiento de *Fusarium* sp. [Online]; 2018. Acceso 2018 de 07 de 2018. Disponible en: <http://www.bioline.org.br/pdf?cg08005>

58.Gianni sachetti sMyc. Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods. [Online]; 2005. Acceso 04 de 08 de 2005. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814604005096>

59.Jiang Y WNyc. Composición química y actividad antimicrobiana del aceite esencial de Romero. [Online]; 2011. Acceso 30 de 03 de 2011. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.etap.2011.03.011>.

60.Bendaha H, YLyc. Nuevos agentes antifúngicos azoles con novedosos modos de acción: síntesis y estudios biológicos de nuevos ligandos tridentados

basados en pirazol y triazol. [Online]; 2011. Acceso 17 de 06de 2011. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2011.06.012>

61.da Silva Bomfim N,Nyc. Actividad antifúngica e inhibición de la producción de fumonisinas por el aceite esencial de Rosmarinus officinalis L. en Fusarium verticillioides (Sacc.) Nirenberg. [Online]; 2015. Acceso 01 de 01de 2015. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.06.019>

62.Wani AR YKKARM. Pub Med. [Online]; 2021. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2020.104620>

63.Sandra Dentone SMC. Determinación in vitro de la actividad antimicótica del aceite de romero (Rosmarinus officinalis) sobre Microsporum canis. [Online]; 207. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172017000100005

64.Bouyahya A ETABYTAFHAJDN. Pub Med. [Online]; 2017. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2017.08.015>

65.Sandra Dentone SMC. Determinación in vitro de la Actividad Antimicótica del Aceite de Romero (Rosmarinus officinalis) sobre Microsporum canis. [Online]; 2017. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172017000100005

ANEXOS

ANEXO 01: MATRIZ DE CONSISTENCIA

ANEXO 1: MATRIZ DE CONSISTENCIA				
TITULO: Efecto de la concentración del aceite esencial de <i>Rosmarinus officinalis</i> sobre el crecimiento de <i>Microsporium canis</i> , in vitro				
PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPOTESIS	VARIABLES/ INDICADORES	METODOLOGIA
<p>GENERAL:</p> <p>- ¿Cuál es el efecto de la concentración del aceite esencial de <i>R. officinalis</i> sobre el crecimiento micelial de <i>M. canis</i>, in vitro</p> <p>ESPECIFICOS:</p> <p>-¿Cuál será el rendimiento del AE extraído de <i>R. officinalis</i>?</p> <p>¿Cuál serán las concentraciones del aceite esencial de <i>R. officinalis</i> para determinar el efecto sobre el crecimiento micelial del dermatofito en estudio</p> <p>-¿Cuáles la tasa de crecimiento micelial y el porcentaje de inhibición de crecimiento micelial de <i>M. canis</i>.</p>	<p>GENERAL:</p> <p>- Evaluar el efecto de la concentración del aceite esencial de <i>R. officinalis</i> sobre el crecimiento micelial de <i>M. canis</i>, in vitro</p> <p>ESPECIFICOS:</p> <p>-Extraer el aceite esencial de <i>R. officinalis</i></p> <p>- determinar el efecto sobre el crecimiento micelial del dermatofito en estudio</p> <p>-Determinar la tasa de crecimiento micelial y el porcentaje de inhibición de crecimiento micelial de <i>M. canis</i>.</p>	<p>HIPOTESIS</p> <p>- A medida que se incrementa la concentración del aceite esencial de <i>R. officinalis</i> "romero", disminuirá el crecimiento micelial de <i>M. canis</i> in vitro.</p>	<p>a) <u>V1</u>: Independiente</p> <p>- concentraciones del aceite esencial de <i>R. officinalis</i></p> <p>c) <u>V2</u>: Dependiente</p> <p>- Crecimiento micelial de <i>M. canis</i> in vitro</p>	<p>1. <u>Tipo</u>: básica</p> <p>2. <u>Diseño</u>: experimental</p> <p>3.- <u>Población</u></p> <p>-cultivos positivos de <i>M. canis</i> aislados de personas con lesiones compatibles con este hongo.</p> <p>-Aceite esencial de <i>R. officinalis</i> que será obtenido por el método de destilación por arrastre de vapor de agua.</p> <p>-Criterios de inclusión: Cultivo monospórico de <i>M. canis</i>.</p> <p>-Criterios de Exclusión: cultivo de <i>M. canis</i> contaminados.</p> <p>4.- <u>Muestra</u>: Alícuotas de aceite esencial de <i>R. officinalis</i> a Diferentes concentraciones obtenido por el método de destilación por arrastre de vapor de agua.</p> <p>5- <u>Técnicas e instrumentos de recolección de datos</u>: Sera a través de observación directa y la medición del crecimiento micelial en mm de cada concentración de AE de <i>R. officinalis</i>, en las placas respectivas</p> <p>6.- <u>Análisis de datos o estadístico</u>:Se determinará el efecto del aceite esencial de <i>R. officinalis</i> sobre el crecimiento de <i>M. canis</i> in vitro, llevando cabo un análisis en la medición del crecimiento micelial expresado en mm del crecimiento de <i>M. canis</i> a diferentes concentraciones de aceite esencial y se procesará los datos en base a la prueba de Varianza Unidireccional (ANOVA), según el paquete estadístico SPSS v.1</p>

ANEXO 02: MATRIZ DE OPERACIONALIZACION DE VARIABLES

variable de estudio	Definición conceptual	definición operacional	dimensión	Indicadores	Escala de medición
Variable independiente concentraciones del aceite esencial de <i>R. officinalis</i>	El AE de romero es un líquido incoloro o de color amarillo pálido, de olor de la planta, u actividad antioxidante y antimicrobiano. Obtenido por método de destilación (48)	Es el número de grupos, seis en total, cuatro experimentales a concentraciones diferentes: 0.05, 0.10, 0.20, 0.40% y un control de crecimiento del hongo (0 %).	%	AE(v/v)	Intervalo
Variable dependiente Crecimiento de <i>M. canis</i> in vitro	Dermatofito <i>M. canis</i> de crecimiento micelial lento de Agar Sabouraud	Es la siembra por puntura central en medio ASD + Antibiótico y medida del diámetro del micelio al 6,8,10,12,14,16,18,21 días	cm	$\%C = \frac{\text{diametro del micleo problema}}{\text{diametro promedio del micleo control negativo}} \times 100$	Intervalo

ANEXO 03: TABLA DE RECOLECCIÓN DE DATOS DEL RENDIMIENTO DE EXTRACCIÓN DE ACEITES ESENCIALES DE *ROSMARINUS OFFICINALIS*

Tabla de recolección de datos del rendimiento de extracción de aceites esenciales de *Rosmarinus officinalis* respecto a obtención del rendimiento de extracción y preparación de las concentraciones del aceite esencial en cada placa Petri conteniendo dicho aceite esencial + agar Sabouraud dextrosa expresado en %.

<p>Rendimiento de obtención del aceite esencial de <i>R. officinalis</i> mediante el método de destilación por arrastre de vapor de agua.</p> <p>Materia prima2Kg = 2000g</p> <p>mL de aceite esencia obtenidos16.8</p> <p>%RAE = (16.8 mL AE /2000g MP) 100 = 084</p>		
Volumen agar Sabouraud dextrosa (placa Petri) (mL)	Alícuota de aceite esencial <i>R. officinalis</i> colocadas en placa Petri (uL)	Concentración del aceite esencial en cada tratamiento (placa Petri) (%)
10	0	0
10	5	0.05
10	10	0.10
10	20	0.20
10	40	0.40

Fuente de elaboración propia.

ANEXO 04: TABLA DE RECOLECCIÓN DE DATOS DEL EFECTO DE DIFERENTES CONCENTRACIONES (%) DE ACEITE ESENCIAL DE *ROSMARINUS OFFICINALIS*

Tabla de recolección de datos del efecto de diferentes concentraciones (%) de aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* sobre el crecimiento de *Microsporun canis* (cm), incubado a temperatura ambiente (25±2°C) durante 21 días, en medio agar Sabouraud dextrosa.

<i>Medidas del diámetro del micelio halo de inhibición de crecimiento</i>									
Concentración del aceite esencial en cada tratamiento (placa Petri) (%)		Días de crecimiento de <i>M. canis</i> expresado en cm.							
		6	8	10	12	14	16	18	21
0.00	Repeticiones	0.6	1.2	1.8	2.2	3.2	4.0	4.6	5.60
		0.6	1.2	1.7	2.3	3.3	4.0	4.8	5.70
		0.5	1.2	1.8	2.3	3.2	4.1	4.8	5.60
		0.6	1.1	1.8	2.3	3.3	4.0	.70	5.60
		0.6	1.2	1.7	2.2	3.3	4.0	4.80	5.60
0.05	Repeticiones	0	0	0	0	0	0	0	0
0.10	Repeticiones	0	0	0	0	0	0	0	0
0.20	Repeticiones	0	0	0	0	0	0	0	0
0.40	Repeticiones	0	0	0	0	0	0	0	0

Fuente de elaboración propia



Fig. 3. Preparación del equipo de destilación para arrastre de vapor para extraer los aceites esenciales de *Rosmarinus officinalis*.

Fuente: Fotografías propias del autor. Alan Rony Huaman Andia .



Destilación de aceites esenciales de *R. officinalis* por arrastre de vapor

Fuente : Fotografía propias del autor. Alan Rony Huaman Andía



Separación de los aceites esenciales de *R. officinalis*.

Fuente: Fotografía propias del autor Alán Rony Huaman Andia



Fig. 3 Crecimiento micelial de *Microsporun canis* a los 14 días de incubación.

Fuente: fotografía propias del autor. Alan Rony Huaman Andía .

“AÑO DE LA UNIDAD, LA PAZ Y EL DESARROLLO”

Solicito: Ambiente de laboratorio para
Realización de trabajo de investigación

Yo, Salazar Castillo, Marco Leoncio, docente de la Facultad de ciencias de la salud de la Universidad César Vallejo filial Piura, asesor de tesis título “Efecto de la concentración del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* sobre el crecimiento de *Microsporum canis*, in vitro”, del autor, Huamán Andia, Alan Rony, solicito utilización de ambiente de laboratorio de Productos Naturales del departamento académico de Química Biológica y Fisiología Animal, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional de Trujillo, para el desarrollo de dicha investigación.



.....
Dr. Salazar Castillo, Marco Leoncio

DNI: 17903338

ORCID : :(0000-0001-6234-0092)



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE MEDICINA

TÍTULO

Efecto de la concentración del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* sobre el crecimiento de *Microsporium canis*, in vitro

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE MEDICO CIRUJANO

Autor:

Huamán Andía, Alan Rony ORCID: 0000-0003-3570-4131

Asesor:

Dr. Salazar Castillo, Marco Leoncio ORCID: 0000-0001-6234-0092

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:

Enfermedades Infecciosas y transmisibles

LÍNEA DE RESPONSABILIDAD SOCIAL UNIVERSITARIA

Promoción de la salud, nutrición y salud alimentaria

PIURA - PERÚ

(2023)

Resumen de coincidencias X

14 %

Se están viendo fuentes estándar

Ver fuentes en inglés

Coincidencias

14	1	repositorio.ucv.edu.pe	6 %
		Fuente de Internet	
	2	library.co	1 %
		Fuente de Internet	
	3	Entregado a Universida...	1 %
		Trabajo del estudiante	
	4	core.ac.uk	1 %
		Fuente de Internet	
	5	storage.googleapis.com	1 %
		Fuente de Internet	
	6	dspace.untru.edu.pe	<1 %
		Fuente de Internet	
	7	beneficios10.com	<1 %
		Fuente de Internet	
	8	repositorio.unatlantico	<1 %
		Fuente de Internet	

Activar Windows

Ve a [repositorio.unatlantico](#)



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA**

Declaratoria de Autenticidad del Asesor

Yo, SALAZAR CASTILLO MARCO LEONCIO, docente de la FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD de la escuela profesional de MEDICINA de la UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO SAC - PIURA, asesor de Tesis titulada: "Efecto de la concentración del aceite esencial de Rosmarinus officinalis sobre el crecimiento de Microsporum canis, in vitro", cuyo autor es HUAMAN ANDIA ALAN RONY, constato que la investigación tiene un índice de similitud de 14.00%, verificable en el reporte de originalidad del programa Turnitin, el cual ha sido realizado sin filtros, ni exclusiones.

He revisado dicho reporte y concluyo que cada una de las coincidencias detectadas no constituyen plagio. A mi leal saber y entender la Tesis cumple con todas las normas para el uso de citas y referencias establecidas por la Universidad César Vallejo.

En tal sentido, asumo la responsabilidad que corresponda ante cualquier falsedad, ocultamiento u omisión tanto de los documentos como de información aportada, por lo cual me someto a lo dispuesto en las normas académicas vigentes de la Universidad César Vallejo.

PIURA, 23 de Diciembre del 2023

Apellidos y Nombres del Asesor:	Firma
SALAZAR CASTILLO MARCO LEONCIO DNI: 17903338 ORCID: 0000-0001-6234-0092	Firmado electrónicamente por: SALAZARCAS el 30- 12-2023 23:39:24

Código documento Trilce: TRI - 0707741