

**UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA  
SEDE CUENCA**

**CARRERA DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA  
DE LOS RECURSOS NATURALES**

*Trabajo de titulación previo a la  
obtención del título de Ingeniera en  
Biotecnología de los Recursos Naturales*

**TRABAJO EXPERIMENTAL:**

**“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD FUNGICIDA DEL ACEITE ESENCIAL  
DE INGA ROSA (*Lantana camara L.*) SOBRE EL HONGO *Microsporium canis*  
CAUSANTE DE DERMATOFITOSIS EN PERROS”**

**AUTORA:**

MICHELLE ESTEFANÍA CARPIO MORETA

**TUTORA:**

DRA. INÉS PATRICIA MALO CEVALLOS, Ph.D.

CUENCA - ECUADOR

2022

## CESIÓN DE DERECHOS DE AUTOR

Yo, Michelle Estefanía Carpio Moreta con documento de identificación N° 0104489281, manifiesto mi voluntad y cedo a la Universidad Politécnica Salesiana la titularidad sobre los derechos patrimoniales en virtud de que soy autora del trabajo de titulación: **“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD FUNGICIDA DEL ACEITE ESENCIAL DE INGA ROSA (*Lantana camara* L.) SOBRE EL HONGO *Microsporum canis* CAUSANTE DE DERMATOFITOSIS EN PERROS”**, mismo que ha sido desarrollado para optar por el título de: *Ingeniera en Biotecnología de los Recursos Naturales*, en la Universidad Politécnica Salesiana, quedando la Universidad facultada para ejercer plenamente los derechos cedidos anteriormente.

En aplicación a lo determinado en la Ley de Propiedad Intelectual, en mi condición de autora me reservo los derechos morales de la obra antes citada. En concordancia, suscribo este documento en el momento que hago entrega del trabajo final en formato digital a la Biblioteca de la Universidad Politécnica Salesiana.

Cuenca, enero de 2022.



Michelle Estefanía Carpio Moreta

C.I. 0104489281

## CERTIFICACIÓN

Yo, declaro que bajo mi tutoría fue desarrollado el trabajo de titulación: **“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD FUNGICIDA DEL ACEITE ESENCIAL DE INGA ROSA (*Lantana camara L.*) SOBRE EL HONGO *Microsporum canis* CAUSANTE DE DERMATOFITOSIS EN PERROS”**, realizado por Michelle Estefanía Carpio Moreta, obteniendo el *Trabajo Experimental* que cumple con todos los requisitos estipulados por la Universidad Politécnica Salesiana.

Cuenca, enero de 2022.



Dra. Inés Patricia Malo Cevallos, Ph.D.

C.I. 0102291044

## DECLARATORIA DE RESPONSABILIDAD

Yo, Michelle Estefanía Carpio Moreta con documento de identificación N° 0104489281, autora del trabajo de titulación: **“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD FUNGICIDA DEL ACEITE ESENCIAL DE INGA ROSA (*Lantana camara L.*) SOBRE EL HONGO *Microsporum canis* CAUSANTE DE DERMATOFITOSIS EN PERROS”**, certifico que el total contenido del *Trabajo Experimental*, es de mi exclusiva responsabilidad y autoría.

Cuenca, enero de 2022.



Michelle Estefanía Carpio Moreta

C.I. 0104489281

## **Dedicatoria**

*A mis abuelos Froilán y Digna por todas las enseñanzas, apoyo y sobre todo amor que me han brindado, ya que son los pilares de todo lo que soy ahora.*

*A mis padres Nancy y René por guiarme, educarme y ayudarme en todo lo necesario para lograr mis sueños, estando siempre ahí para mi cuando más los necesito, a mis hermanos Marco y Paúl por las enseñanzas que me han transmitido para ser más fuerte y lograr lo que pueda imaginar.*

*Con mucho amor Michelle.*

## Agradecimientos

A mis padres ya que siempre están para mí cuando los necesito, por todo el apoyo y esfuerzo que hacen para darme siempre lo mejor, por guiarme y formarme para ser cada día una mejor persona.

A mis hermanos por el apoyo que siempre me dan para cumplir mis sueños y enseñarme a ser cada día más fuerte.

A mis abuelos por ser mi inspiración para lograr cualquier cosa que me proponga.

A mi tutora, Dra. Inés Malo, por guiarme a lo largo de toda la carrera, siendo una de las mejores docentes y un gran ejemplo de persona y por transmitir todos sus conocimientos científicos y sobre todo el apoyo para culminar este trabajo.

A Renato Ordoñez Palacios médico veterinario, por confiar en mí y tomarse el tiempo y darme su apoyo para la realización de este trabajo a pesar de la distancia.

A mi amigo Alexis, por todo el apoyo, paciencia y sabiduría para finalizar este trabajo de la mejor manera.

A mis amigas Yanela y Anabel por acompañarme a lo largo de toda la carrera brindándome su amistad sincera y por permitirme compartir las mejores experiencias a su lado.

A todos mis profesores que me han acompañado a lo largo de toda la carrera y me han brindado sus conocimientos, demostrando ser unos grandes profesionales y buenos amigos.

## **Siglas y Acrónimos:**

**AE:** aceite esencial.

**ANOVA:** análisis de varianza

**AS:** agar Sabouraud con cloranfenicol.

**CMI:** concentración mínima inhibitoria

**CN:** control negativo

**CP:** control positivo

**DMSO:** dimetilsulfóxido

**mm:** milímetros

## Índice de contenido

### Tabla de contenido

<b>Resumen.....</b>	<b>15</b>
<b>Abstract.....</b>	<b>16</b>
<b>Capítulo 1.....</b>	<b>17</b>
<b>Introducción .....</b>	<b>17</b>
<b>1.1 Planteamiento del problema .....</b>	<b>18</b>
<b>1.2 Antecedentes:.....</b>	<b>19</b>
<b>1.3 Justificación.....</b>	<b>21</b>
<b>1.4 Objetivos .....</b>	<b>22</b>
<i>1.4.1 Objetivo General:.....</i>	<i>22</i>
<b>1.5 Hipótesis.....</b>	<b>23</b>
<b>1.6 Pregunta de investigación: .....</b>	<b>23</b>
<b>Capítulo 2.....</b>	<b>24</b>
<b>Bases teóricas.....</b>	<b>24</b>
<b>2.1 <i>Lantana camara L.</i>: .....</b>	<b>24</b>
<i>2.1.1 Origen .....</i>	<i>25</i>
<i>2.1.2 Fito constituyentes:.....</i>	<i>25</i>
<i>2.1.3 Usos medicinales tradicionales: .....</i>	<i>25</i>
<i>2.1.4 Actividades farmacológicas:.....</i>	<i>25</i>
<b>2.2 Componentes Químicos:.....</b>	<b>26</b>
<i>Tabla 2 .....</i>	<i>26</i>



<b>2.3 Aceite esencial:</b> .....	<b>27</b>
<b>2.4 Actividad antimicrobiana</b> .....	<b>27</b>
<b>2.5 <i>Microsporium canis</i></b> .....	<b>28</b>
2.5.1 <i>Descripción micológica</i> .....	28
<b>2.6 Dermatofitosis</b> .....	<b>29</b>
2.6.1 <i>Sintomatología:</i> .....	29
2.6.2 <i>Período de incubación:</i> .....	30
2.6.3 <i>Epidemiología:</i> .....	30
<b>2.7 Tratamientos:</b> .....	<b>30</b>
<b>2.8 Técnica de arrastre de vapor o hidrodestilación</b> .....	<b>31</b>
<b>2.9 Microdilución en caldo</b> .....	<b>31</b>
<b>Capítulo 3</b> .....	<b>32</b>
<b>Materiales y métodos</b> .....	<b>32</b>
<b>Materiales</b> .....	<b>32</b>
<b>Procedimiento</b> .....	<b>33</b>
3.1 <i>Recolección de Lantana camara L.</i> .....	33
3.2 <i>Selección del material vegetal</i> .....	33
3.3 <i>Obtención del aceite esencial de Lantana camara L.</i> .....	34
<b>3.4 Propiedades del aceite esencial de <i>Lantana camara L.</i></b> .....	<b>34</b>
<b>Materiales</b> .....	35
3.4.1 <i>Rendimiento</i> .....	35
3.4.2 <i>Densidad Relativa</i> .....	36
3.4.3 <i>Índice de refracción:</i> .....	36

	10
3.4.4 Determinación de pH.....	37
3.4.5 Solubilidad en etanol .....	38
<b>3.5 Aislamiento <i>Microsporum canis</i> .....</b>	<b>38</b>
3.5.1 Materiales .....	38
3.5.2 Procedimiento para aislamiento <i>Microsporum canis</i> .....	39
3.5.3 Identificación micológica: .....	41
<b>3.6 Preparación de inóculo .....</b>	<b>42</b>
3.6.1 Materiales:.....	42
3.6.2 Procedimiento:.....	43
<b>3.7 Preparación de las concentraciones de Aceite Esencial.....</b>	<b>45</b>
3.7.1 Materiales:.....	45
3.7.2 Procedimiento:.....	46
<b>3.8 Difusión en agar empleando discos .....</b>	<b>47</b>
<b>3.9 Porcentaje de inhibición .....</b>	<b>48</b>
<b>3.10 Microdilución en caldo .....</b>	<b>48</b>
3.10.1 Concentración del aceite esencial .....	49
<b>3.10.2 Control positivo .....</b>	<b>49</b>
3.10.3 Preparación de inóculo.....	49
3.10.4 Preparación de medio de cultivo .....	49
<b>3.11 Microdilución .....</b>	<b>50</b>
<b>Capítulo 4.....</b>	<b>53</b>
<b>Resultados.....</b>	<b>53</b>
<b>4.1 Rendimiento de <i>Lantana camara L.</i>.....</b>	<b>53</b>

4.2 Características fisicoquímicas del aceite de <i>Lantana camara L.</i> .....	54
4.3 Características del hongo <i>Microsporum canis</i> .....	55
4.4 Difusión en agar empleando discos .....	57
4.5 Determinación de la CMI del aceite esencial por microdilución en caldo.....	64
Capítulo 5.....	67
5.1 Conclusiones:.....	67
5.2 Recomendaciones:.....	69
Bibliografía .....	70
ANEXOS.....	76

## Índice de figuras

<b>Figura 1</b> <i>Ilustración Botánica Lantana camara L.</i> .....	24
<b>Figura 2</b> <i>Microfotografía Microsporum Canis</i> .....	28
<b>Figura 3</b> <i>Equipo de destilación.</i> .....	34
<b>Figura 4</b> <i>Refractómetro de marca ATAGO.</i> .....	36
<b>Figura 5</b> <i>pH del aceite esencial de Lantana camara L.</i> .....	37
<b>Figura 6</b> <i>Microsporum canis</i> .....	39
<b>Figura 7</b> <i>Sembrado de muestras.</i> .....	40
<b>Figura 8</b> <i>Sembrado Microsporum canis.</i> .....	40
<b>Figura 9</b> <i>Conidios Microsporum canis</i> .....	41
<b>Figura 10</b> <i>Matraz con cepas del hongo Microsporum canis.</i> .....	43
<b>Figura 11</b> <i>Solución coloidal en cámara de Neubauer.</i> .....	44
<b>Figura 12</b> <i>Esporas Microsporum canis</i> .....	44
<b>Figura 13</b> <i>Prueba de difusión de agar empleando discos a diferentes concentraciones.</i>	47
<b>Figura 14</b> <i>Concentraciones de aceite esencial.</i> .....	46
<b>Figura 15</b> <i>Llenado de placa para microdilucion.</i> .....	50
<b>Figura 16</b> <i>Revelado de placa de 96 micro pocillos transcurrido 3 días.</i> .....	51
<b>Figura 17</b> <i>Microsporum canis.</i> .....	55
<b>Figura 18</b> <i>Microsporum canis</i> .....	56
<b>Figura 19</b> <i>Microsporum canis.</i> .....	56
<b>Figura 20</b> <i>Macronidio de Microsporum canis.</i> .....	57
<b>Figura 21</b> <i>Halos de inhibición</i> .....	58

<b>Figura 22</b> <i>Gráfica de Normalidad</i> .....	61
<b>Figura 23</b> <i>Gráfica de halos de inhibición a diferentes concentraciones.</i> .....	63
<b>Figura 24</b> <i>Gráfica de halos de inhibición frente al control positivo.</i> .....	64
<b>Figura 25</b> <i>Puntos de corte en el revelado de placa.</i> .....	65
<b>Figura 26</b> <i>Sembrado de puntos de corte.</i> .....	66

## Índice de tablas

<b>Tabla 1:</b> <i>Taxonomía de Lantana camara L.</i> .....	25
<b>Tabla 2:</b> <i>Componentes de Inga Rosa encontrados en las partes aéreas de la planta.</i> .....	26
<b>Tabla 3:</b> <i>Componentes del Aceite Esencial.</i> .....	27
<b>Tabla 4:</b> <i>Materiales para la Recolección y extracción de aceite esencial de Lantana camara L.</i> .....	32
<b>Tabla 5:</b> <i>Coordenadas de lugares donde se obtuvo el material vegetal.</i> .....	33
<b>Tabla 6:</b> <i>Materiales utilizados para realizar las pruebas fisicoquímicas del aceite.</i> .....	35
<b>Tabla 7:</b> <i>Materiales utilizados para obtención y asilamiento del hongo.</i> .....	38
<b>Tabla 8:</b> <i>Materiales para la preparación del inóculo y lavado de esporas</i> .....	42
<b>Tabla 9:</b> <i>Materiales utilizados para la preparación de las concentraciones y halos de inhibición del A.E.</i> .....	45
<b>Tabla 10:</b> <i>Materiales y equipos utilizados para la prueba de microdilución en caldo.</i> ...	48
<b>Tabla 11:</b> <i>Rendimiento del aceite esencial de Lantana camara L.</i> .....	53
<b>Tabla 12:</b> <i>Pruebas fisicoquímicas del aceite esencial.</i> .....	54
<b>Tabla 13:</b> <i>Resultados de los halos de inhibición.</i> .....	59
<b>Tabla 14:</b> <i>Porcentaje de inhibición del aceite a diferentes concentraciones.</i> .....	60
<b>Tabla 15:</b> <i>Medias dadas por el programa Minitab de los halos de inhibición.</i> .....	62
<b>Tabla 16:</b> <i>Análisis de Varianza.</i> .....	62
<b>Tabla 17:</b> <i>Medias de Halos de inhibición Frente al control positivo.</i> .....	63

## Resumen

La dermatofitosis es una enfermedad cutánea provocada por hongo *Microsporum canis*, el cual afecta a la piel, uñas y pelo de animales, provocando lesiones leves y hasta graves; esta enfermedad se puede contagiar al tener contacto directo con animales de compañía, siendo un vector principal para el contagio a seres humanos; Por lo que, a través de este proyecto se planteó evaluar la actividad fungicida del aceite esencial de Inga rosa (*Lantana camara L.*) siendo una especie vegetal bastante común en nuestro país, y usada para tratar lesiones cutáneas, Se realizaron pruebas *in vitro* donde se evaluó su actividad fungicida con pruebas de difusión en agar empleando discos a diferentes concentraciones: 80%,50%,25% y 10%; como control positivo se utilizó Enilzonazol al 2%, determinando su actividad fungicida mediante halos de inhibición. Por otra parte, se realizó una microdilución en placa de 96 pocillos a dos concentraciones distintas del aceite esencial: 40% y 15% para determinar la concentración mínima inhibitoria. Se comprobó el efecto fungicida del aceite esencial al 80% y 50% siendo los halos más grandes a una medida de 28,5mm y 22,5 mm respectivamente; y mediante la microdilución en caldo se determinó que la concentración mínima inhibitoria del aceite se encuentra entre 1.25% y 1.87%.

**Palabras clave:** Dermatofitosis, *Lantana camara L*, *Microsporum canis*, concentración mínima inhibitoria.

### **Abstract**

Dermatophytosis is a skin disease caused by the fungus *Microsporum canis*, which affects the skin, nails and hair of animals, causing mild to severe lesions; this disease can be spread by direct contact with pets, being a main vector for transmission to humans. The present project aims to evaluate the fungicidal activity of the essential oil of Inga rosa (*Lantana camara L.*), a plant species quite common in our country, and used to treat skin lesions. In vitro tests were performed to evaluate its fungicidal activity with agar diffusion tests using discs at different concentrations: 80%, 50%, 25% and 10%; Enilzonazole at 2% was used as a positive control, determining its fungicidal activity by means of inhibition halos. On the other hand, a microdilution was performed in a 96-well plate at two different concentrations of the essential oil: 40% and 15% to determine the minimum inhibitory concentration. The fungicidal effect of the essential oil was verified at 80% and 50%, with the largest halos measuring 28.5 mm and 22.5 mm respectively; and by means of microdilution in broth it was determined that the minimum inhibitory concentration of the oil is between 1.25% and 1.87%.

Translated with [www.DeepL.com/Translator](http://www.DeepL.com/Translator) (free version)

**Key words:** Dermatophytosis, *Lantana camara L.*, *Microsporum canis*, minimum inhibitory concentration.



## Capítulo 1

### Introducción

La tiña o dermatofitosis es una infección superficial que afecta a los tejidos queratinizados como cabello, uñas y capa superficial de la epidermis. En los animales, es causada comúnmente por los géneros: *Microsporum* y *Trichophyton* (Moriello & Newbury, 2008), siendo esto los más comunes en lesiones de animales (Sykes & Greene, 2011), responsables de la mayoría de casos clínicos en perros y gatos (Miller et al., 2014).

Los hospedadores más comunes de esta enfermedad son los animales de compañía, estos pueden a su vez ser un vector principal para el contagio en humanos (Granjero & Garcia Vasquez, 2000), cuando los hospedadores presentan la enfermedad se producen lesiones, las cuales son caracterizadas por alopecia en forma circular, así como descamación (Miller et al., 2014).

En el caso de diagnósticos veterinarios, la tiña es una enfermedad fúngica que se produce mayormente en animales como perros, seguidas de gatos, lo que representa aproximadamente el 60% del total de 270 pacientes tratados; Los perros y gatos son las especies que generan mayor número de estudios epidemiológicos para este tipo de muestras (Cabañes, 2000).

Para el tratamiento de esta enfermedad se utilizan micóticos de forma tópica como: e

Enilconazol, mezclas de hidróxidos de calcio y azufre, clorhexidina, miconazol, ketoconazol. Debido a su aplicación estos en su mayoría producen efectos tóxicos como daños a nivel gastrointestinal en animales, existen fármacos que no han sido eficaces como el ketoconazol que ha demostrado poca efectividad sobre el hongo *Microsporum.canis* (Fraile Ocaña et al., 2011).

Por otra parte, existen estudios sobre la efectividad del aceite esencial de Inga Rosa (*Lantana camara L.*) frente al crecimiento de microorganismos patógenos, como es el caso de Sreeramulu et al. (2017) quienes realizaron una investigación sobre la capacidad fungicida de Inga Rosa para la inhibición del hongo *Colletotrichum*.

La investigación se realiza con el fin de determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) del aceite esencial de Inga Rosa (*Lantana camara L.*) contra el hongo *Microsporium canis* el cual es causante de dermatofitosis en perros, siendo estos un vector principal para la propagación tanto a otros animales como a seres humanos, ocasionando lesiones capilares. El estudio se lo realizara *in vitro* por los métodos de halos de inhibición y micro dilución en caldo.

### **1.1 Planteamiento del problema**

La tiña o dermatofitosis es una enfermedad causada por un grupo de hongos relacionados, los cuales son capaces de infectar los tejidos queratinizados de pelo, piel y uñas, tanto al ser humano como a los animales (Molina de Diego, 2011). De esta manera el género *Microsporium canis* el cual se encuentra distribuido a nivel mundial, está presente en animales domésticos de compañía principalmente perros y gatos (Fraile Ocaña et al., 2011) por consecuencia son un vector principal para la transmisión de la enfermedad a la especie humana.

Las tiñas de capilar y corporal en niños del área rural causada por animales son casi exclusivas de *Microsporium canis* en un 80% (Venadero Albarrán, Padilla Desgarenes, & Guzmán, 2006). *M canis* presenta un periodo de crecimiento de 10 a 15 días por lo que produce manifestaciones clínicas muy variables, que van desde síntomas leves, hasta lesiones supuradas e inflamatorias intensas, que reciben el nombre genérico de dermatofitosis o tiñas (Caballería, Sagarra y Bosque, s. f.).

En Europa el hongo *Microsporum canis*, ha demostrado que tiene alta incidencia de lesiones en humanos con respecto a otras especies de hongos, teniendo un porcentaje más alto en Italia (Panasiti y col. 2007), seguido de Polonia (Lange y col. 2004) y Eslovenia (Dolenc- Voljc y col. 2005). De acuerdo al estudio realizado por Pereiro y colaboradores durante 1951-1987, determinaron que *Microsporum canis* fue el principal hongo patógeno encontrado en cultivos realizados a personas representando un 25,5 % Bush, (2017).

Por otra parte, un estudio realizado por Josa Rodriguez, Quijano y Urias Martinez (2017) en el Salvador, estableció que de 17 muestras positivas para dermatofitosis, 11 de ellas fueron por *M. canis*. En Ecuador se han realizado diversas investigaciones acerca de *tiña capitis* obteniéndose en un 6.7% de muestras la presencia del hongo *Microsporum canis* (Castro Castro, 2015).

## **1.2 Antecedentes:**

Se realizó un estudio por Dentone y Siever Morales (2017), para la determinación de la actividad antifúngica, del aceite esencial de romero -*Rosmarinus officinalis*- frente al hongo *Microsporum canis*. Por lo cual a partir de muestras clínicas aislaron el hongo, y, mediante la técnica de arrastre de vapor lograron la extracción del aceite esencial. Por otra parte, utilizaron el método de Micro dilución en caldo y enfrentaron al hongo *Microsporum canis* con ocho concentraciones distintas del aceite esencial de romero (250, 500, 1000, 2000, 5000, 10 000, 50 000 y 100 000 ppm). Como resultado se determinó que la concentración adecuada se encontraba a partir de 50 000 ppm.

Bashir et al., (2019) realizaron una investigación determinando por análisis fitoquímico y potencial antifúngico *in vitro* contra *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. Utilizando extractos de frutos, hojas y tallo de *Lantana camara* L. Se utilizaron concentraciones del 1 al 5% de extracto

de *L. camara* contra el hongo de prueba. Como resultado al existir una mayor concentración en el extracto de fruta metanólica al 5%, redujo significativamente la biomasa de *C. gloeosporioides* hasta un 66%. Este estudio concluyó que la fruta de *L. camara* contiene compuestos bioactivos que poseen actividad antifúngica contra *C. gloeosporioides*.

Pardo et al., (2011) investigaron la actividad antifúngica que posee los extractos de la planta *Lantana camara*, los cuales fueron evaluados con seis especies diferentes de *Candida spp.* -*Candida albicans*, *Candida dubliniensis*, *Cándida krusei*, *Candida guilliermondii*, *Candida tropicalis*, *Candida parapsilosis*- y un aislamiento primario de *Candida albicans*-. Mediante el análisis realizado por espectroscopía infrarroja, dentro de los tallos y hojas se identificaron flavonoides, en dónde; una fracción del tallo inhibió el crecimiento de *Candida dublinensis* y *Candida albicans*, y de la misma manera existió otra que inhibió *Candida guilliermondii*. Por otra parte, se identificó que fracciones de hojas inhibieron *Candida krusei*. Llegando a la conclusión que existen fracciones dentro de tallos y hojas de *Lantana camara* que contienen flavonoides los cuales inhiben el crecimiento de dichos hongos.

Valdez Tenezaca, (2018) realizó una investigación acerca de la actividad insecticida del aceite esencial de *Lantana camara* y la probó sobre la especie *Drosophila melanogaster*, donde utilizó el método de arrastre de vapor, para la extracción de aceite esencial en el cual identificó distintos componentes mediante el análisis de espectrometría de masas así como cromatografía de gases, llegando a la conclusión que el aceite esencial de *L. camara* mostró actividad insecticida sobre la especie de mosca *Drosophila melanogaster*.

Ashish et al. (2011), Sreeramulu, Arunakumar, y Lakshmi Narasimha Reddy, (2017) realizaron un estudio en el cual se evaluó el efecto del extracto crudo y diferente del solvente de

la hoja de *Lantana camara*, contra el hongo *Colletotrichum falcatum*. El extracto crudo acuoso y los extractos solventes tales como extractos de metanol, acetato de etilo y cloroformo se analizaron a diferentes concentraciones. Teniendo como resultado que los tres extractos solventes mostraron una inhibición significativa a concentraciones más altas por lo que se concluyó que el extracto crudo y solvente seleccionado de la hoja de *Lantana camara* posee actividad antifúngica contra *Colletotrichum*.

La investigación realizada por Ashish et al., (2011), en donde determinaron la actividad antimicrobiana de los extractos metanólicos y de acetona crudos de *Lantana camara*, y lo aplicaron contra trece bacterias de prueba y ocho cepas de hongos. Como resultado de esta investigación se concluyó que ambos extractos con disolvente inhibieron al máximo el crecimiento de *Staphylococcus aureus*, porque los fitoquímicos de *L. camara* tienen un amplio espectro antimicrobiano y podrían ser una nueva fuente de medicamentos antimicrobianos.

Oyourou et al., (2013), investigaron las propiedades y actividades antimicrobianas utilizando extractos de hojas de *Lippia javanica Spreng.* y *Lantana camara Linné*. En donde el análisis por cromatografía líquida de alta resolución reveló el contenido de verbascósidos en partes de plantas de *L. camara*. Como conclusión se determinó que los extractos de la planta mostraron inhibición efectiva *in vivo* de *Penicillium digitatum* en naranjas.

### **1.3 Justificación**

En la actualidad los dermatofitos muestran respuesta a los productos químicos disponibles en el mercado, el tratamiento de estas patologías es prolongado ocasionando así un alto costo (Biasi-Garbin et al., 2016). El contagio del hongo *Microsporum canis* tanto para seres humanos como animales, se da por contacto directo, siendo los animales un vector principal para la

transmisión de esta enfermedad, por lo que existen diversos tratamientos elaborados a partir de compuestos químicos para su control, los cuales al momento de aplicarlos pueden causar efectos secundarios como: úlceras orales, afecciones gastro intestinales y en algunos casos puede producir toxicidad (Fraile Ocaña et al., 2011). Por lo que existe la necesidad de mejorar y formular nuevas alternativas terapéuticas, como el uso de productos naturales, ya que existen diversidad de plantas que poseen actividades biológicas para combatir este tipo de enfermedades, razón por la cual se realizó la investigación de la efectividad del aceite esencial de Inga Rosa (*Lantana camara L.*) como una posible alternativa natural y así impedir el crecimiento y propagación del hongo *Microsporium canis* en perros reduciendo un vector principal de contagio a seres humanos y otras especies animales.

#### **1.4 Objetivos**

##### ***1.4.1 Objetivo General:***

Evaluar la actividad fungicida del aceite esencial de Inga Rosa (*Lantana camara L.*) frente a *Microsporium canis* para utilizarlo como una alternativa natural.

##### **1.4.2 Objetivos específicos:**

Evaluar las características fisicoquímicas del aceite esencial de Inga Rosa (*Lantana camara L.*) extraído por el método de arrastre de vapor utilizando pruebas de laboratorio determinando la calidad del producto obtenido.

Caracterizar el hongo *Microsporium canis* aislado mediante técnicas de laboratorio para su identificación.

Determinar *in vitro* la actividad antifúngica del aceite esencial de Inga Rosa (*Lantana cámara L.*) mediante métodos de difusión en agar y micro dilución en caldo evaluando la concentración óptima para inhibición del hongo *Microsporium canis*.

### **1.5 Hipótesis**

El aceite esencial de Inga Rosa (*Lantana cámara L.*) inhibe el crecimiento del hongo *Microsporum canis*.

### **1.6 Pregunta de investigación:**

¿Cómo influye el aceite esencial de Inga Rosa (*Lantanta camara L.*) extraído en el desarrollo de microorganismos?

## Capítulo 2

### Bases teóricas

#### 2.1 *Lantana camara* L.:

*Lantana camara* L. es un arbusto pequeño con ramas largas y débiles. Las hojas son opuestas, ovadas, de 5–12 cm de largo con un olor picante. Las flores son en espigas densas, con corola en forma de bandeja, 1–1.2 cm de largo, naranja, rojo, rosado o abigarrado. El fruto es azulado, globoso y de 4 mm de diámetro (Koh et al., 2009). Su taxonomía se la encuentra descrita en la tabla 1.

#### Figura 1

*Ilustración Botánica Lantana camara* L.



Fuente:(Koh et al., 2009)



**Tabla 1***Taxonomía de Lantana camara L.*

<b>Reino:</b>	<i>Plantae</i>
<b>División:</b>	<i>Magnoliophyta</i>
<b>Clase:</b>	<i>Magnoliopsida</i>
<b>Orden:</b>	<i>Lamiales</i>
<b>Familia:</b>	<i>Verbenaceae</i>
<b>Genero:</b>	<i>Lantana</i>
<b>Especie:</b>	<i>Camara</i>

**2.1.1 Origen:** nativo de México y América del Sur (*USDA Plants Database*, s. f. 2008)

**2.1.2 Fito constituyentes:**

Lantadeno A y B, ácido lantánico, ácido lantanílico, icterogenina, lantanosa A y B, lamiridosida, geniposido,  $\delta$ -guaiene, ácido camarínico y otros (Koh et al., 2009).

**2.1.3 Usos medicinales tradicionales:**

Según Duke (1985), toda la planta se usa como baño para tratar la sarna, también es carminativa, diaforética, vulneraria, utilizada para fístulas, pústulas, tumores, reumatismo, tétanos y espasmos.

Las hojas se usan para tratar malaria, la raíz se usa para tratar la fiebre, las paperas, la neurodermatitis y las lesiones traumáticas (Tabuti et al., 2010).

**2.1.4 Actividades farmacológicas:**

Antihelmíntico, antimutagénico, antibacteriano, anticancerígeno / antineoplásico, antifertilidad, antiinflamatorio, antimicrobiano, antimotilidad, antioxidante. antitrombótico,

antiviral, antifilarial, repelente de insectos, insecticida, larvicida, molusquicida y espermatotóxico (Koh et al., 2009).

*Lantana camara L.*, figura como una de las plantas medicinales importantes del mundo. Se ha realizado una gran cantidad de trabajos, especialmente en India, sobre los componentes químicos de *L.camara* y sobre sus diversas propiedades medicinales. Se sabe que *L.camara* exhibe una importante actividad antibacteriana y actividad antifúngica ( Girish, 2017).

Se informa que exhibe actividad antifúngica significativa contra muchas plantas y hongos patógenos (Bhavya, 2018).

## 2.2 Componentes Químicos:

Estudios realizados por Begum, (2008a; 2010); Fester, (1961); Gupta et al., (1995); (Roy & Barua,(1985), presentan en su bibliografía la composición química del aceite esencial de *Lantana camara L.*, y se resume a continuación en la tabla 2.

### **Tabla 2**

*Componentes de Inga Rosa encontrados en las partes aéreas de la planta.*

<b>Componentes del Aceite de <i>Lantana camara L.</i></b>
Triterpenoides policíclicos o <i>lantadeno A, B, C y D</i>
<i>Icterogenina</i>
<i>Camarósido</i>
<i>ácido a -dihidroxi-ursanoico</i>
<i>ácido oleanónico</i>
<i>ácido b-hidroxi-oleanenoico</i>
<i>ácido 22-b-acetoxilantánico</i>
<i>ácidos lántico, lantanílico lantoico</i>
<i>lantigdienona</i>
<i>ácido ursólico.</i>
<i>ácido camarólico</i>
<i>ácido lantriglólico</i>

triterpenosáido camárico, lantanólico, lantanílico, pomólico,  
 camarínico, lantóico, lantacina, camarina, camarinina

---

### 2.3 Aceite esencial:

Según Kurade N, (2010) menciona los siguientes compuestos más importantes encontrados en el aceite esencial descritos en la tabla 3.

**Tabla 3**

*Componentes del Aceite Esencial.*

<i>Compuestos</i>	<i>Porcentaje</i>
$\alpha$ -farneseno	28.86%
Beta-cariofileno	12.28%
Zingibereno	7.63%
Gama-curcumeno	7.50%)
Alfa-humuleno	3.99%
Biciclogermacreno	19.42%
Isocariofileno	16.70%
Valeceno	12.94%
Germacreno D	12.34%

**Fuente:** Kurade N, (2010)

### 2.4 Actividad antimicrobiana

Según Deena y Thoppil, (2000) y Valsaraj, (1997), el aceite esencial de *Lantana camara L.*, mediante el método de difusión de agar empleando discos, demostró actividad antimicrobiana frente a *E. coli*, *Pseudomona aeruginosa*, *Bacillus subtilis* y *S.aureus*.

El aceite esencial de *Lantana camara L.*, el cual al utilizar un diluyente como acetona demostró que posee actividad fungicida frente a hongos patógenos como: *Aspergillus niger*, *Fusarium solani*, mientras que por otra parte en ensayos con nistatina impidió el crecimiento de *Candida albicans*, (Deena y Thoppil, 2000). De acuerdo con varios estudios realizados se

comprobó que posee actividad antifúngica frente a *Artrobacter protophormiae*, *Micrococcus luteus*, *Rhodococcus* (Viani et al., s. f.), (Kurade, Souza.2010).

## **2.5 *Microsporium canis***

El hábitat principal del hongo *Microsporium canis* fue el suelo, y, a este se lo conoce como un hongo zoofílico, cuando infecta a animales y después personas. Causando una enfermedad llamada tiña capilar; la cual puede ocasionar tiña en la piel, sin embargo esta no afecta a los pies o uñas (Viani et al., 2007).

De acuerdo con su fenotipo el género *Microsporium*, es caracterizado por la presencia de microconidios y macroconidios los cuales contienen paredes gruesas, (Porton et al., 2012) y (Passos et al., 2012).

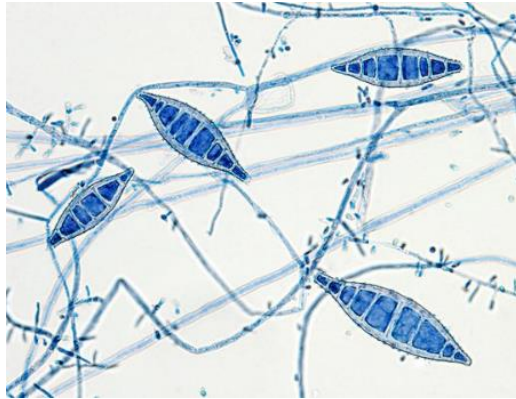
### **2.5.1 Descripción micológica**

Es un hongo filamentoso, posee macroconidios en forma de huso o alargados de un tamaño entre 35-110 x 12-25  $\mu$ , está formado con 6 a 12 células en su interior, son de pared gruesa -2  $\mu$ m-, cuenta con microconidios de 1-2  $\mu$ m, los cuales se encuentran de forma lateral en la hifa.

El hongo *Microsporium canis*, crece a temperatura de 25-30 °C, de acuerdo con sus características su micelio es de color blanco, aspecto lanoso y sus bordes son irregulares, mientras que al anverso es de tonalidad amarilla rojiza (Porton et al., 2012).

## **Figura 2**

*Microfotografía Microsporium canis*



Fuente: Merchant, (2016) citato por Sosa Monsalve, (2016).

## 2.6 Dermatofitosis

Son infecciones fúngicas que afectan a los tejidos queratinizados de la piel, uñas y pelo. Los dermatofitos se dividen en tres géneros; *Microsporum*, *Tricophyton*, *Epidermophyton*, (Rippon & Castañeda, 1992).

Su clasificación se divide de acuerdo con su hábitat, los que se encuentran en animales y son transmisibles a otros animales y al hombre se denominan zoofílicos, dermatofitos que se encuentran en humanos, se denominan antropofílicos, y, por último, aquellos que su hábitat es el suelo infectando a animales y personas denominados geofílicos (Cabeza, 2010); (Guzmán et al., 2000); (Cervantes, 2004) ;(Fraile et al., 2010).

### 2.6.1 Sintomatología:

La dermatofitosis presenta sintomatologías diferentes como; presencia de escamas o caspa por la aglomeración de células cutáneas, pérdida de pelo o alopecia, enrojecimiento o inflamación en la capa superficial de la piel, así como hiperpigmentación y oscurecimiento, puede existir comezón o irritación. Comúnmente es en forma circular. La -tiña en perros-, es una lesión causada principalmente por el hongo *Microsporum canis*, se caracteriza por su forma circular de 1 a 4 cm; manifestándose principalmente en la cabeza, cola, patas y orejas. (Cabeza, 2010).

### **2.6.2 Período de incubación:**

El hongo *Microsporum canis* produce una fluorescencia característica de color verde, la cual se puede observar a partir de los 7 días de contagio, mientras que su sintomatología clínica se produce en un periodo de 2 a 4 semanas (Castro Castro, 2015).

### **2.6.3 Epidemiología:**

La detección de dermatofitos se realiza mediante diagnóstico clínico, ya que existen distintos tipos de hongos los cuales están asociados a factores como; animales portadores, epidemias recurrentes institucionales o familiares, área geográfica, aunque se encuentren a nivel mundial (Chacón-Cardona, 2016), poseen adaptabilidad a distintas condiciones ecológicas y así como genéticas que les permite su desarrollo.

La dermatofitosis está presente en mayor frecuencia en áreas rurales, donde, la mayoría de las manifestaciones clínicas es causada por hongos zoofílicos, esto ocurre por el contacto con animales infectados, así como hongos geofílicos, que están presentes en reservorios o suelos (Spiewak & Szostak, 2000).

## **2.7 Tratamientos:**

Para el tratamiento de la dermatofitosis, todavía se utilizan fármacos queratolíticos simples y otros fármacos que actúan directamente sobre el hongo. Se utilizan varios medicamentos antimicóticos para tratar los diferentes tipos de tiña (Cárdenas, 2012)

La sustancia miconazol al 2 % y un champú combinado de miconazol al 2 % / clorhexidina son antifúngicos. Para casos crónicos o severos y para tiña en razas de pelo largo de gatos y

Yorkshire Terriers, está indicado el tratamiento sistémico. Itraconazol, fluconazol, terbinafina, ketoconazol y griseofulvina se han utilizado con éxito.

La dosis de griseofulvina 25-100 mg / kg, puede usarse en perros diariamente o en dosis divididas, y la dosis en gatos 25-50 mg / kg, diariamente en dosis divididas absorbiéndose mejor cuando se administra con una comida rica en grasas (Merchant, 2016).

## **2.8 Técnica de arrastre de vapor o hidrodestilación**

Esta técnica se basa en vapor sobrecalentado el cual, separa sustancias volátiles de productos no volátiles, donde, la técnica de destilación consiste en separar líquidos insolubles entre sí como es el agua y aceite, donde cada uno de ellos ejerce su propia tensión independientemente del otro. (Ambrocio y Martínez, 2015).

## **2.9 Microdilución en caldo**

Según Taroco et al., (2006), consiste en poner a prueba a los agentes patógenos que se van a estudiar, frente a distintas concentraciones de antimicrobianos, dividiendo las diluciones a la mitad y analizar el crecimiento de los patógenos, determinando su concentración mínima inhibitoria, CMI.

Para esta prueba es necesario utilizar una placa con 96 micro pocillos ( $12 \times 8$ ) de fondo redondo o cónico (Saikia & Sahoo, 2011); (Malbrán, s. f.).

### Capítulo 3

#### Materiales y métodos

El trabajo experimental está basado en el tipo de investigación aplicativo, ya que plantea resolver problemas o basarse en la historia natural de la enfermedad a partir de bases de datos secundarios para obtener información acerca de artículos científicos que abarcan temas como: estudios de dermatofitosis, estudios realizados con el aceite esencial de Inga Rosa (*Lantana camara L.*), inhibición del hongo *Microsporum canis* y de la misma forma porcentaje del hongo a nivel mundial y local. La investigación de datos primarios se obtuvo de la experimentación en el laboratorio, por lo que se realizó previamente una investigación de campo, en la cual se tomaron muestras tanto de la planta y el hongo de estudio y luego se realizaron pruebas en laboratorio. Se aplicó el aceite esencial sobre el hongo *Microsporum canis*, para determinar la concentración mínima con la que se impide su crecimiento.

#### Materiales

Para la recolección de material vegetal de *Lantana camara L.* el cual se obtuvo dentro de la provincia del Azuay, y la obtención del aceite esencial se necesitaron equipos y materiales descritos en la tabla 4.

#### Tabla 4



*Materiales para la recolección y extracción de aceite esencial de Lantana camara L.*

<b>Equipos:</b>	<b>Materiales</b>
Destilador por arrastre de vapor	Embudos de decantación
Centrífuga	Frascos ámbar 500 mL
Balanza electrónica	Tubos cónicos
	Papel aluminio

Fuente: Autora

## **Procedimiento**

### **3.1 Recolección de Lantana camara L.**

La recolección de material vegetal de *Lantana camara L.* se obtuvo de varios sectores de la provincia del Azuay, se tomaron muestras en siete distintos lugares tomando sus coordenadas geográficas como se puede observar en la tabla 5, únicamente se recolectaron hojas frescas de la planta con la que se trabajó, posteriormente se reunieron todas las hojas recolectadas en los distintos sitios, para la extracción del aceite esencial.

#### **Tabla 5:**

*Coordenadas de lugares donde se obtuvo el material vegetal.*

<b>Lugar</b>	<b>Coordenadas X</b>	<b>Coordenada Y</b>
<b>1</b>	-78.99907596	-2.88653626
<b>2</b>	-78.99900556	-2.88629617
<b>3</b>	-78.99935827	-2.88843955
<b>4</b>	-79.0012167	-2.8887811
<b>5</b>	-79.00482193	-2.89060101
<b>6</b>	-78.1167043	-2.3004507
<b>7</b>	-78.9993167	-2.89281403

*Nota:* De cada recolección de material vegetal se tomaron las coordenadas ubicadas en la provincia del Azuay Fuente: Autora

### **3.2 Selección del material vegetal**

La selección del material vegetal se realizó manualmente, donde se trabajó con hojas limpias desechando aquellas que mostraban enfermedades, posteriormente se realizó un lavado de estas con agua destilada eliminando así impurezas (Saikia & Sahoo, 2011).

### **3.3 Obtención del aceite esencial de *Lantana camara L.***

El aceite esencial se obtuvo por medio de hidrodestilación o arrastre de vapor como se observa en la figura 3. Se pesó 2 kg de muestra con ayuda de una balanza electrónica y fue colocado en el equipo durante 3 horas. Posteriormente el resultado agua- aceite fue almacenado en decantadores de 800 mL dejándolos reposar 78 horas. Una vez separado el aceite del agua, se realizó una centrifugación del aceite durante 15 minutos para eliminar restos de agua obteniendo aceite esencial puro, el cual se colocó en un frasco ámbar a 4 °C para que conserve sus características.

#### **Figura 3**

*Equipo de destilación.*



Fuente: Autora.

### **3.4 Propiedades del aceite esencial de *Lantana camara L.***

Para la obtención de datos acerca de las propiedades fisicoquímicas del aceite esencial de *Lantana cámara L.*, se realizaron varias pruebas como: índice de refracción, densidad relativa, solubilidad en etanol y su rendimiento, utilizando los materiales y equipos descritos en la tabla 6.

### ***Materiales***

**Tabla 6**

*Materiales utilizados para realizar las pruebas fisicoquímicas del aceite.*

<b>Equipos:</b>	<b>Materiales:</b>
Potenciómetro digital	Picnómetro
Balanza analítica	Vasos de precipitación de 50 mL
Refractómetro	Gotero
	<b>Reactivos:</b>
	Buffer 4, 6, 10
	Aceite esencial <i>Lantana camara L</i>
	Agua destilada
	Etanol al 96%

Fuente: Autora

#### **3.4.1 Rendimiento**

Para determinar el rendimiento del A.E. se tomó como referencia los 2 kg de materia vegetal, la cual fue la capacidad del equipo de destilación.

Se calculó el rendimiento mediante la fórmula descrita por Rengifo et al., (2010):

$$P = \frac{mg}{kg} = \frac{P1}{P2} \times 100$$

Donde:

**P:** Rendimiento de A.E. mg/kg expresado en %

**P<sub>1</sub>:** Peso final de A. E.

$P_2$ : Peso inicial de tejido vegetal fresco

### 3.4.2 Densidad Relativa

Se determinó mediante la técnica descrita por Pumaylle et al., (2012), donde se pesó en una balanza analítica el picnómetro vacío y luego se anotó su peso P. Por otra parte, se pesó el picnómetro con agua destilada a una temperatura de 20 °C.

La densidad de  $\rho_{20}$ , se calculó utilizando la siguiente fórmula:

$$P_{20\text{ }^{\circ}\text{C}} = \frac{P_2 - P}{P_1 - P}$$

Dónde:

P: peso del picnómetro vacío en gramos

$P_1$ : peso del picnómetro con agua destilada a 20 °C

$P_2$ : peso del picnómetro con aceite esencial a 20 °C

### 3.4.3 Índice de refracción:

Se utilizó un refractómetro de marca ATAGO, a este se lo calibró previamente con agua destilada. Para su lectura, se colocó una gota de aceite esencial sobre el prisma, de acuerdo con la normativa NTE INEN-ISO (6320, 2013).

#### Figura 4

*Refractómetro de marca ATAGO.*



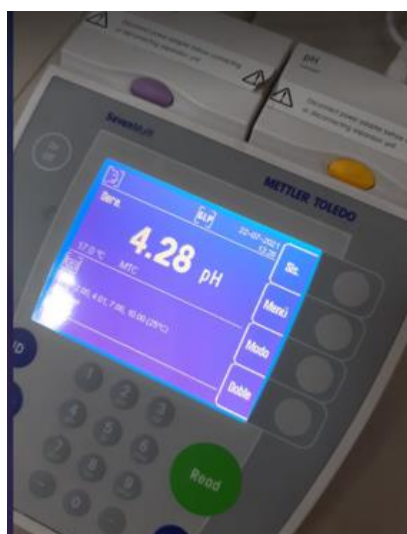
Fuente: Autora.

#### ***3.4.4 Determinación de pH***

Para la determinación del pH, se calibró el potenciómetro con buffer 4, 7 y 10 respectivamente, se procedió a limpiar el electrodo y posteriormente se colocó el A.E. puro en un vaso de precipitación, se tomó la lectura por medio de la pantalla digital del equipo se repitió este procedimiento tres veces.

#### **Figura 5**

*pH del aceite esencial de Lantana camara L.*



Fuente: Autora.

### 3.4.5 Solubilidad en etanol

Bajo la normativa NMX-K-081-1976 en donde el método consiste en observar el grado de miscibilidad a una temperatura de 20 °C, agregando progresivamente una dilución de etanol de una concentración determinada a un aceite esencial. Se utilizó la técnica descrita por Pumaylle et al., (2012), En donde a una probeta se transfiere 1 mL de aceite esencial y luego se agrega etanol en concentración de 50 a 96 %, hasta conseguir un volumen final de 20 mL, en agitación constante utilizando un agitador Vortex.

### 3.5 Aislamiento *Microsporium canis*

En la tabla 7, se describen los materiales y equipos necesarios para la recolección de muestras del hongo *Microsporium canis* en animales con lesiones en su piel, de esta manera con la buena manipulación de muestras se logró aislar el hongo.

#### 3.5.1 Materiales

**Tabla 7**

*Materiales utilizados para obtención y aislamiento del hongo.*

<b><i>Equipos:</i></b>	<b><i>Materiales:</i></b>
Estufa	Cajas Petri pequeñas
Lámpara de Wood	Asa
Cámara de flujo laminar	Cinta
Microscopio	Pinzas
	Mechero
	Marcador
	Portaobjetos
	Cubre objetos
	<b><i>Reactivos:</i></b>
	Agar Sabouraud con cloranfenicol
	Alcohol 70%
	Azul de lactofenol

Fuente: Autora.

### 3.5.2 Procedimiento para aislamiento *Microsporum canis*

La recolección de muestras del hongo se las realizó por el método descrito en el Manual de Gordillo Cabrera, (2010).

Con ayuda de una lámpara de Wood en un lugar completamente oscuro, como se puede observar en la Figura 6, el paciente presenta una fluorescencia característica verdosa como lo describe Pemán et al., 2007).

#### Figura 6

*Microsporum canis*



*Nota:* Fluorescencia característica del hongo *Microsporum canis* con ayuda de una lámpara de Wood. Fuente: Animalopolis.

Se tomaron muestras de raspado de piel, pelos y escamas al borde de la lesión, con ayuda de pinzas y bisturí estériles, luego fueron colocadas dentro una caja Petri previamente esterilizada y etiquetada para el transporte de las muestras.

Para la siembra se utilizaron las muestras de pelos que contienen el folículo piloso intacto, escamas y raspados de piel, con ayuda de un asa de siembra recta se colocó en agar Sabouraud con

cloranfenicol utilizando la metodología descrita por Pemán et al.,(2007), para impedir el crecimiento bacteriano, las cajas fueron rotuladas con el nombre y fecha en que se realizó la siembra.

### **Figura 7**

*Sembrado de muestras.*



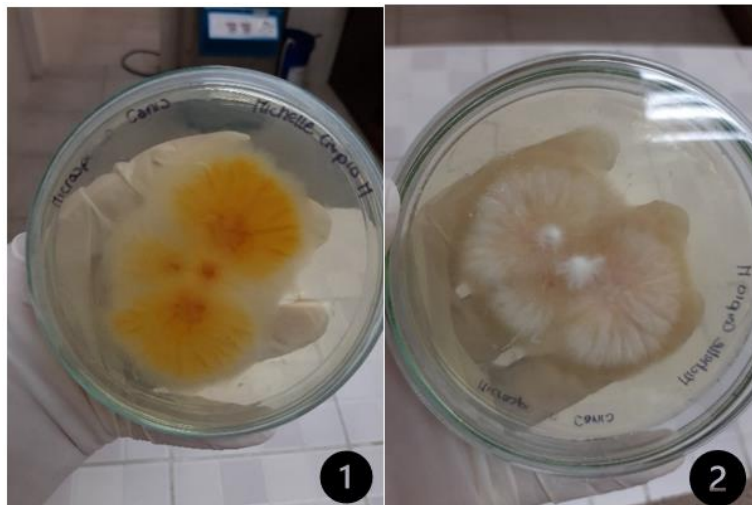
Fuente: Autora

Se incubó por 15 días a temperaturas entre 25°C y 30°C con 30% de humedad, los cultivos se evaluaron diariamente.

### **Figura 8**

Cultivo de *Microsporium canis*.





*Nota: 1: Microsporium canis* reverso de la caja; *2: Microsporium canis* anverso de la caja. Fuente: Autora.

### 3.5.3 Identificación micológica:

A una colonia de hongo crecida en agar Sabouraud, se la puso en el portaobjetos con azul de lactofenol para identificar su morfología en el microscopio (Calderón Castilla & Calderón Moreno, s. f. 2016). Se utilizó el lente 100x, observándose las características de los conidios y comparándolas con las descritas por Arenas Guzmán, (2008). Las características microscópicas se pueden observar en la figura 9.

### Figura 9

Conidios de *Microsporium canis*



*Nota:* se observó bajo el lente de 100x. Fuente: Autora.

### 3.6 Preparación de inóculo

Para la estandarización el inóculo se realizó un lavado de esporas, dejando a la cepa pura 14 días en un matraz, y posterior a esto se hizo un conteo de esporas para determinar la concentración del inóculo para así ajustarla a  $1 \times 10^6$  conidios/mL, La tabla 8, describe los materiales y equipos utilizados para esta técnica.

#### 3.6.1 Materiales:

**Tabla 8**

*Materiales para la preparación del inóculo y lavado de esporas.*

<b>Equipos:</b>	<b>Materiales:</b>
Cámara de flujo laminar	Embudos
Estufa	Gasas estériles
Microscopio	Matraces 250 mL
Cámara de Neubauer	Vasos de precipitación 100mL
Vortex	Tubo de ensayo con tapa
Autoclave	Tubos cónicos

Gradilla  
Mechero  
Pipetas de 10 mL  
Micropipeta  
Puntas para micropipeta  
Pera de goma  
**Reactivos:**  
Azul de lactofenol  
Agua destilada estéril

---

Fuente: Autora.

### **3.6.2 Procedimiento:**

Una muestra de *Microsporium canis* fue sembrada 14 días antes en un matraz del 100 mL de capacidad, en 30 mL de agar Sabouraud con cloranfenicol, luego se añadió 20 mL de agua estéril y se realizaron 5 lavados; se filtró la solución con una gasa estéril.

### **Figura 10**

*Matraz con cepas del hongo Microsporium canis.*



Fuente: Autora.

Se tomó una muestra del inóculo mezclándola con una gota de azul lactofenol para teñir las esporas, esto se colocó en la cámara de Neubauer, observando en el microscopio con el lente a 40x y se procedió con el recuento de esporas. Esto sirvió para estandarizar la solución hasta conseguir una concentración de  $1 \times 10^6$  conidios/mL (Kosalec et al., 2005).

### Figura 11

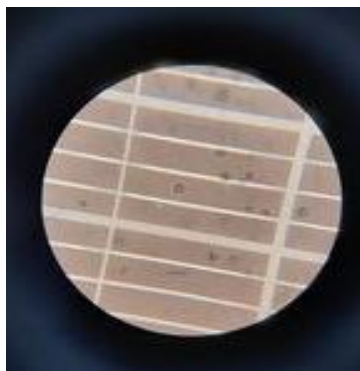
*Solución coloreada en cámara de Neubauer.*



Fuente: Autora.

### Figura 12

*Esporas Microsporium canis*



*Nota:* visto bajo el lente de 40x. Fuente: Autora.

### **3.7 Preparación de las concentraciones de Aceite Esencial**

Para la preparación de las concentraciones de aceite esencial de *Lantana camara L.* se utilizó DMSO como solvente, por otra parte, se realizó el método de Kirby Bauer, en donde se depositó en la superficie del agar la solución estandarizada del inóculo, y luego se impregnaron discos de papel a las distintas concentraciones del aceite esencial. En la tabla 9 se describen los materiales y reactivos utilizados para esta técnica.

#### **3.7.1 Materiales:**

#### **Tabla 9**

*Materiales utilizados para la preparación de las diluciones de A.E.*

<b>Equipos:</b>	<b>Materiales:</b>
Cámara de flujo laminar	Discos de papel filtro esteriles
Vortex	Micropipetas
Estufa	Tubos cónicos
Autoclave	Puntas para micropipetas
	Pinzas
	Papel aluminio
	<b>Reactivos:</b>
	DMSO
	Aceite esencial de <i>Lantana cámara L</i>
	Enilconazol
	Agua estéril
	Solución de esporas estandarizada

Fuente: Autora.

**3.7.2 Procedimiento:**

Se trabajó con cuatro concentraciones de aceite esencial en tubos cónicos de 1 mL. Para la primera concentración de 80 % v/v se mezcló 80  $\mu$ L de aceite esencial y 20  $\mu$ L de DMSO, para la concentración de 50 % v/v se utilizó 50  $\mu$ L de aceite esencial y 50  $\mu$ L de DMSO, la tercera concentración fue de 25 % v/v donde se colocó 25  $\mu$ L de aceite esencial y 75  $\mu$ L de DMSO, la última concentración fue de 10 % v/v donde se utilizó 10  $\mu$ L de aceite esencial y 90  $\mu$ L de DMSO, posteriormente cada concentración fue rotulada. Como control positivo se utilizó Enilconazol al 2 %.

**Figura 13**

*Concentraciones de aceite esencial.*



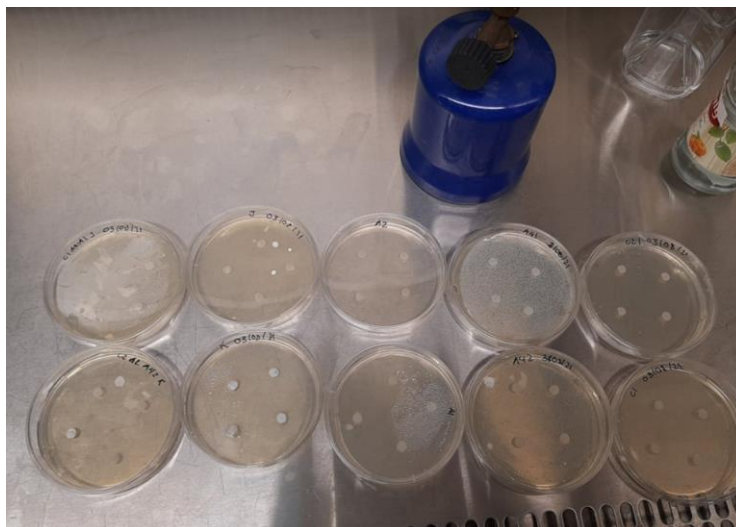
Fuente: Autora.

### 3.8 Difusión en agar empleando discos

Con ayuda de la micropipeta se tomaron muestras del inóculo y fueron colocadas en cajas con agar Sabouraud con cloranfenicol, con ayuda de un asa Drigalski se distribuyó el inóculo por toda la caja, dejándolo reposar durante 10 minutos, transcurrido el tiempo con ayuda de una pinza estéril se pusieron los discos de papel filtro previamente estériles y embebidos con X uL de las distintas concentraciones de A.E. dentro de las cajas, estas fueron selladas con Parafilm, y colocadas en fundas autosellantes, como control positivo se utilizó Enilconazol al 2 % y como control negativo agua estéril, las pruebas fueron realizadas por triplicado dejando en la estufa a 25 °C durante 7 días.

#### Figura 14

*Prueba de difusión en agar empleando discos con A.E. a diferentes concentraciones.*



Fuente: Autora.

### 3.9 Porcentaje de inhibición

Para la determinación del porcentaje de inhibición de halo se utilizó la fórmula descrita por Rodríguez, (2010).

$$\% \text{ efecto inhibitorio} = \frac{\text{Diámetro halo de inhibición}}{\text{Diámetro halo de inhibición control positivo}} \times 100$$

### 3.10 Microdilución en caldo

Para esta técnica se utilizó una microplaca de 96 pocillos en la cual se colocó caldo de papa dextrosa, la solución estandarizada del inóculo, y aceite esencial de *Lantana camara L.* a diferentes concentraciones para determinar su concentración mínima inhibitoria frente al hongo *Microsporium canis*. En la tabla 10, se encuentran los materiales utilizados para esta técnica.

#### Tabla 10

*Materiales y equipos utilizados para la prueba de microdilución en caldo.*



<b>Equipos:</b>	<b>Materiales:</b>
Lector de microplacas	Microplaca de 96 pocillos
	Micropipetas
	Puntas para Micropipetas
	Tubos cónicos
	<b>Reactivos:</b>
	Aceite esencial de <i>Lantana camara L.</i>
	Caldo de Papa Dextrosa
	Enilconazol
	Resazurina
	Agua estéril
	Solución estandarizada

---

Fuente: Autora

### ***3.10.1 Concentración del aceite esencial***

Se realizaron diluciones v/v a partir de 40% y 15%, las mismas que terminaron en una concentración de 0.31% v/v y 0.11% v/v respectivamente.

### ***3.10.2 Control positivo***

Se empleó como antibiótico Enilconazol el cual es utilizado para el control de enfermedades contra dermatofitosis (Fraile Ocaña et al., 2011).

### ***3.10.3 Preparación de inóculo***

Se realizó un lavado de esporas hasta conseguir una concentración de  $1 \times 10^6$  conidios/mL

### ***3.10.4 Preparación de medio de cultivo***

El medio de cultivo utilizado fue papa dextrosa, el cual se lo preparó con rodajas finas de papa y agua destilada; dejando en ebullición durante 30 min, posteriormente se filtró y se añadió dextrosa, se ajustó el pH a 5.6 y se colocó dentro de varios tubos con tapa rosca, se autoclavó durante 15 minutos a una temperatura de 121 °C.

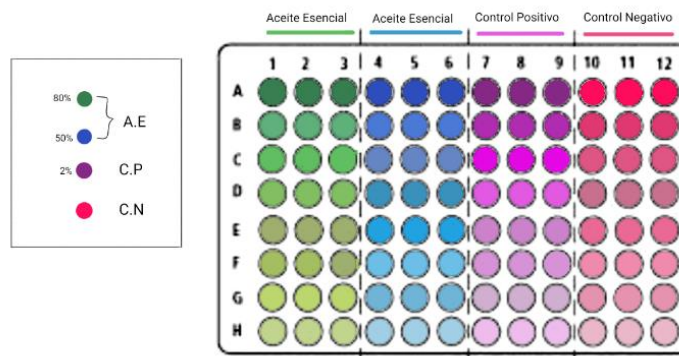
### **3.11 Microdilución**

Se utilizó una microplaca de 96 pocillos, en donde se colocó el medio de cultivo para el 40% se colocaron 110 uL de caldo papa dextrosa y 80 uL de aceite esencial, para la concentración de 15% se colocó 160 uL de caldo y 30uL de aceite esencial, y 10 uL de inóculo en cada uno de los pocillos con un volumen final de 200 uL La placa fue distribuida de la siguiente manera:

Las filas 1 a 3 contienen aceite esencial en diferentes concentraciones iniciando desde 40% v/v y terminando en 0.31 % v/v, en las filas 4 a 6 contienen el aceite esencial a una concentración 15% v/v y terminando en 0.11 % v/v, las filas 7 a 9 el control positivo, las filas 10 a 12 el inóculo solo.

**Figura 15**

*Disposición de la placa para microdilución.*



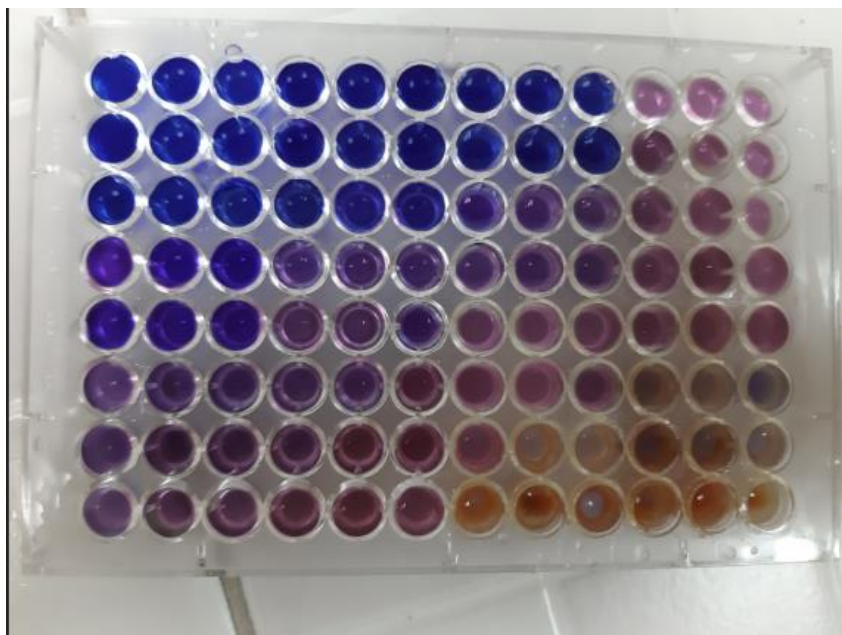
*Nota:* El color verde y azul representa el A.E a distintas concentraciones, el color morado representa el control positivo, y el color rojo el control negativo.

Una vez llenada la placa esta fue sellada con papel aluminio, y colocada en la estufa a 25 °C durante 3 días.

Cuando trascurió el tiempo se realizó el revelado de la placa, colocando con ayuda de una micropipeta 3 µL de rezaurina en cada pocillo, se dejó reposar durante 10 min, y se anotaron los resultados de acuerdo con la coloración de los pocillos, en la figura 16 el color azul representa células muertas indicando que el aceite esencial posee actividad fungicida, mientras que el color rosado representa células vivas y el color morado una incertidumbre entre células vivas o muertas.

**Figura 16**

*Revelado de placa de 96 micro pocillos transcurrido 3 días.*



Fuente: Autora.

## Capítulo 4

### Resultados

#### 4.1 Rendimiento de *Lantana camara L.*

Se realizó 20 destilaciones con un tiempo de 3 horas cada una, en donde se colocó 2 kg de material vegetal en cada destilación teniendo como resultado una mezcla de agua y aceite, se centrifugó para extraer la mayor cantidad de aceite, se calculó su rendimiento aplicando la siguiente formula descrita por (Vargas & Rengifo, 2010):

$$P = \frac{mg}{kg} = \frac{P1}{P2} \times 100$$

Donde:

**P:** Rendimiento de A.E. mg/kg expresado en porcentaje.

**P<sub>1</sub>:** Peso final de A.E.

**P<sub>2</sub>:** Peso inicial de tejido vegetal fresco

Teniendo como resultado el rendimiento del aceite en 1000 g de materia vegetal descrita en la siguiente tabla:

**Tabla 11**

*Rendimiento del aceite esencial de Lantana camara L.*

Peso g	Rendimiento ml/kg	Porcentaje de rendimiento
<b>1000</b>	0.296	0.029

*Nota:* Se realizó los cálculos del rendimiento del aceite a partir de 1000 g de materia vegetal y se comparó con la investigación de Valdez Tenezaca, (2018), obteniendo una similitud en los resultados del rendimiento de la planta.

El rendimiento de la planta se comparó con la investigación realizada por Valdez Tenezaca, (2018), donde realiza el método de destilación por arrastre de vapor, con el que trabajó con hojas frescas, determinando el rendimiento del aceite esencial de *Lantana camara L.* teniendo un resultado de 0.022 % similar al obtenido en la presente investigación.

#### 4.2 Características fisicoquímicas del aceite de *Lantana camara L.*

Todas las pruebas fisicoquímicas del aceite esencial de *Lantana camara L.*, fueron realizadas por triplicado, sacando un valor medio de las mismas. Obteniendo los resultados que se observan en la tabla 12.

**Tabla 12**

*Pruebas fisicoquímicas del aceite esencial.*

Parámetro	Replica 1	Replica 2	Replica 3	Media
pH	4.30	4.27	4.28	4.28
Densidad	0.83	0.82	0.83	0.82
Índice de refracción	1.486	1.486	1.486	1.486
Solubilidad en etanol al 96 %	Fácilmente soluble	Fácilmente soluble	Fácilmente soluble	

*Nota:* Cada prueba se realizó por triplicado para la obtención de una media en los resultados.

Los datos obtenidos en la presente investigación se encuentran en un rango similar con las pruebas realizadas por Valdez Tenezaca, (2018) y Namuche Machco y Valdiviezo Campos, (2017) representados en la Tabla 13.

**Tabla 13**

*Resultados de las pruebas realizadas por Valdez Tenezaca, (2018) y Namuche Machco y Valdiviezo Campos, (2017).*

Parámetro	pH	Densidad	Índice de refracción
Valdez Tenezaca	5.3	0.845	1.423
Namuche Machco y Valdiviezo Campos	4	0,938	1.488

*Nota:* obteniendo similitud en sus resultados, podría significar que el aceite esencial obtenido no perdió sus características, siendo de buena calidad.

### 4.3 Características del hongo *Microsporium canis*

*Microsporium canis* se cultivó en agar Sabouraud con cloranfenicol a una temperatura de 25 °C durante 14 días, a partir del tercer día de incubación se pudo observar pequeñas colonias algodonosas de color blanco, después de seis días se tornaron de color amarillo claro; y finalmente transcurridos los 14 días se tornó de color marrón.

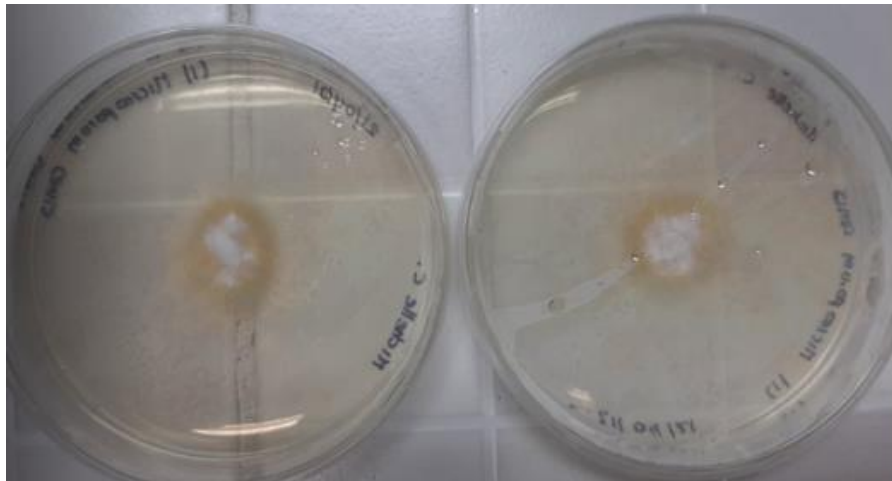
**Figura 17**

*Microsporium canis.*



*Nota:* Colonias algodonosas de color blanco transcurrido 3 días de incubación. Fuente:

Autora.

**Figura 18***Microsporium canis*

*Nota:* Colonia algodonosa transcurrido 6 días de incubación tornándose de color amarillo. Fuente:

Autora.

**Figura 19***Microsporium canis*.

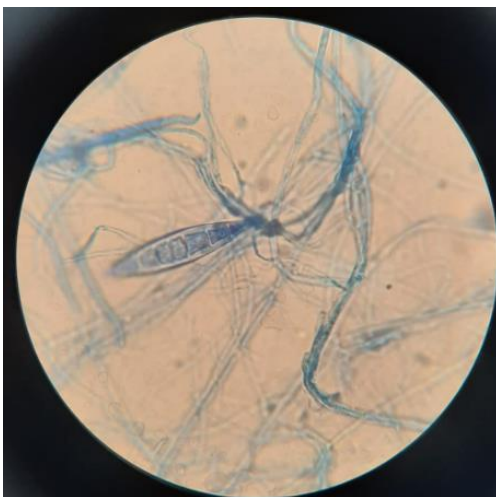
*Nota:* Cepa pura de *Microsporium canis* transcurridos 14 días de incubación. Fuente: Autora.



Transcurridos los 14 días de incubación para determinar las características microscópicas del hongo, se realizó tinción con azul de lactofenol, observando macronidios con una medida de 3.8  $\mu\text{m}$  en forma de huso o raqueta con más de seis lóculos, pared gruesa con una protuberancia terminal; a partir del día 30 se observaron las esporas de forma redonda generadas por el hongo *Microsporium canis*, como los describe Arenas Guzmán, (2008).

### Figura 20

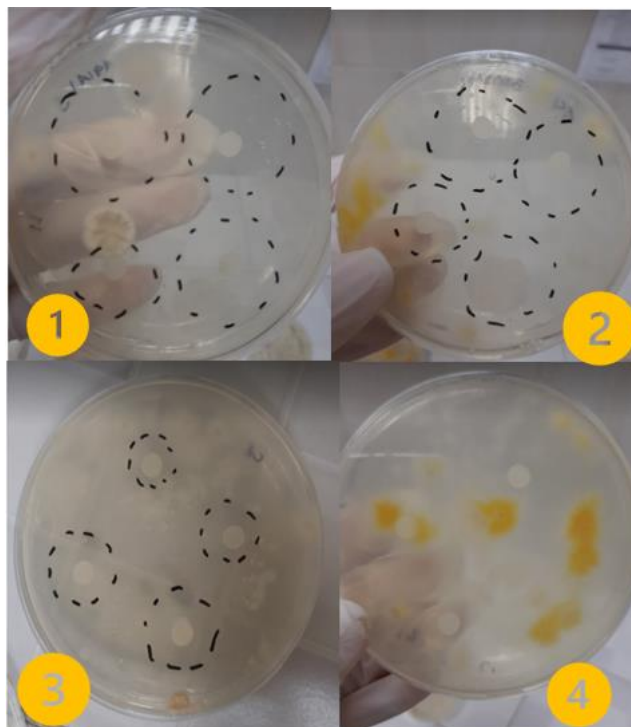
*Macronidio de Microsporium canis.*



*Nota:* Visto bajo el lente de 100x. Fuente: Autora.

#### 4.4 Difusión en agar empleando discos

La prueba se realizó con cuatro concentraciones de aceite esencial, al 80%, 50%, 25% y 10%, como control positivo se utilizó Enilconazol al 2% ya que se encuentra a esa concentración para los tratamientos de esta enfermedad como lo describe Fraile Ocaña y colaboradores, (2011). Las cajas contenían medio Sabouraud con cloranfenicol, a cada una de ellas se colocó 4 discos de papel filtro que contenían el aceite esencial a las distintas concentraciones.

**Figura 21***Halos de inhibición*

*Nota:* 1; representa una concentración de 80% de aceite, 2: 50%; 3: 25%, y, 4: 10%.

Fuente: Autora.

Transcurridos siete días se midió los halos de inhibición que existían alrededor de los discos, tomando en cuenta que se realizaron las pruebas por triplicado, cada caja contenía cuatro discos con aceite esencial, la medida se tomó en milímetros teniendo como resultados los siguientes datos:

**Tabla 14**

*Resultados de los halos de inhibición.*

<b>Concentración</b>	<b>Medida de halos de inhibición en mm</b>	<b>Media</b>
<b>80 %</b>	30 mm	28.5 mm
	30 mm	
	27 mm	
	27 mm	
<b>50 %</b>	22 mm	22.5 mm
	25 mm	
	21 mm	
	22 mm	
<b>25 %</b>	11 mm	12 mm
	12 mm	
	13 mm	
	12mm	
<b>10 %</b>	6 mm	5.75 mm
	5 mm	
	6 mm	
	6 mm	
<b>Control positivo</b>	30mm	29.5 mm
	30mm	
	29mm	
	29mm	

*Nota:* Se tomó la media de cada caja Petri teniendo en cuenta que en cada una existían 4 discos.

Fuente: Autora.

Los resultados se los comparó con la investigación realizada por Saikia & Sahoo, (2011) y Valencia Cantuña, (2018), donde realizan pruebas y comparan su efecto inhibitorio contra hongos y bacterias, teniendo medidas con un promedio alto en los halos de inhibición similares a los obtenidos en la presente investigación. Por otra parte, en la investigación de Deena & Thoppil, (2010), determina que el aceite esencial de *Lantana camara L*, puede inhibir el crecimiento de diferentes hongos como: *Fusarium solani*, *Colletotrichum musae*, *Rhizopus Oryzae*, *Aspergillus niger*.

Para determinar el porcentaje de inhibición se aplicó la fórmula descrita por Rodríguez (2000):

$$\% \text{ efecto inhibitorio} = \frac{\text{Diámetro halo de inhibición}}{\text{Diámetro halo de inhibición control positivo}} \times 100$$

En la tabla 15, se observa los resultados del aceite esencial de *Lantana camara L.*, en donde demuestra que el aceite esencial a una concentración del 80% y al 50% tienen un nivel alto de inhibición frente al hongo *Microsporum canis*, siendo del 96.6% y 76.2% que representan porcentajes altos que podrían ser utilizados para un tratamiento natural.

**Tabla 15**

*Porcentaje de inhibición del aceite a diferentes concentraciones.*

<b>Tratamiento</b>	<b>Porcentaje de inhibición</b>
Aceite esencial al 80%	96.6%
Aceite esencial al 50%	76.2%
Aceite esencial al 25%	40.6%
Aceite esencial al 10%	19.49%

*Nota:* Aplicando la fórmula dada por Rodríguez (2000), se observa que el aceite esencial tiene un alto porcentaje de inhibición.

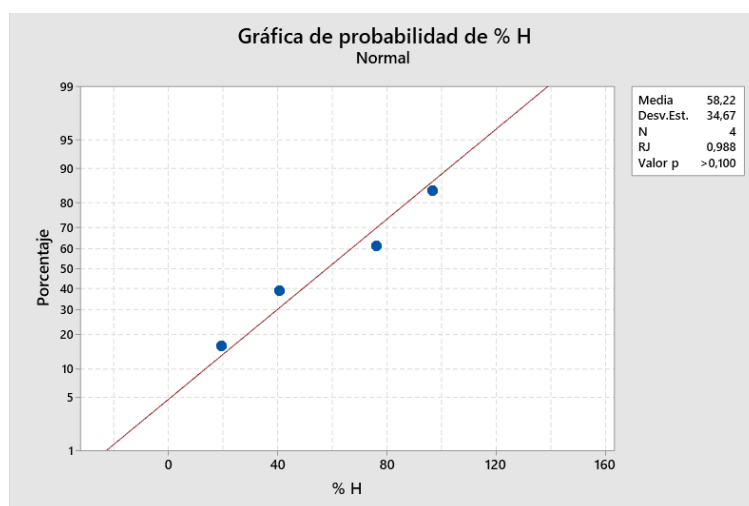
Se realizó una prueba de normalidad para verificar si existe correlación entre los datos obtenidos para así poder realizar el diseño estadístico ANOVA. Se utilizó el método de Ryan-Joiner el cual determina si existe correlación en los datos, por lo tanto, si el coeficiente de correlación ( $\rho$ ) se encuentra cerca de 1 quiere decir que la población de datos es normal, y de lo

contrario se encuentra por debajo, debiendo rechazarse la hipótesis nula, determinando que no existe normalidad de la población.

La Figura 22, demuestra que existe una normalidad en los datos obtenidos teniendo como valor  $p > 0.100$ , mayor al valor de significancia 0.05, quiere decir que se puede realizar un diseño estadístico ANOVA.

## Figura 22

### *Gráfica de Normalidad*



En la Tabla 16, representa los resultados dados por el programa Minitab, se analizó el método estadístico ANOVA de un solo factor, en donde se colocaron las medidas de los halos de inhibición de las diferentes concentraciones del aceite esencial, teniendo en cuenta que cada caja Petri contenía 4 discos (N), se calculó la media de cada caja a sus distintas concentraciones (Media), con un intervalo de confianza (IC) al 95%.

**Tabla 16**

*Medias dadas por el programa Minitab de los halos de inhibición.*

<b>Factor</b>	<b>N</b>	<b>Media</b>	<b>Desv.Est.</b>	<b>IC de 95%</b>
80%	4	28,500	1,732	(27,067; 29,933)
50%	4	22,500	1,732	(21,067; 23,933)
25%	4	12,000	0,816	(10,567; 13,433)
10%	4	5,750	0,500	(4,317; 7,183)

*Desv.Est. agrupada = 1,3149*

En la Tabla 17, describe el análisis de varianza donde analiza los grados de libertad (GL), valor F y el valor p. siendo este 0,000 por lo tanto es menor al grado de significancia 0.05, aceptando la hipótesis donde indica que existe inhibición del aceite esencial de *Lantana camara L* frente al hongo *Microsporm canis*.

**Tabla 17**

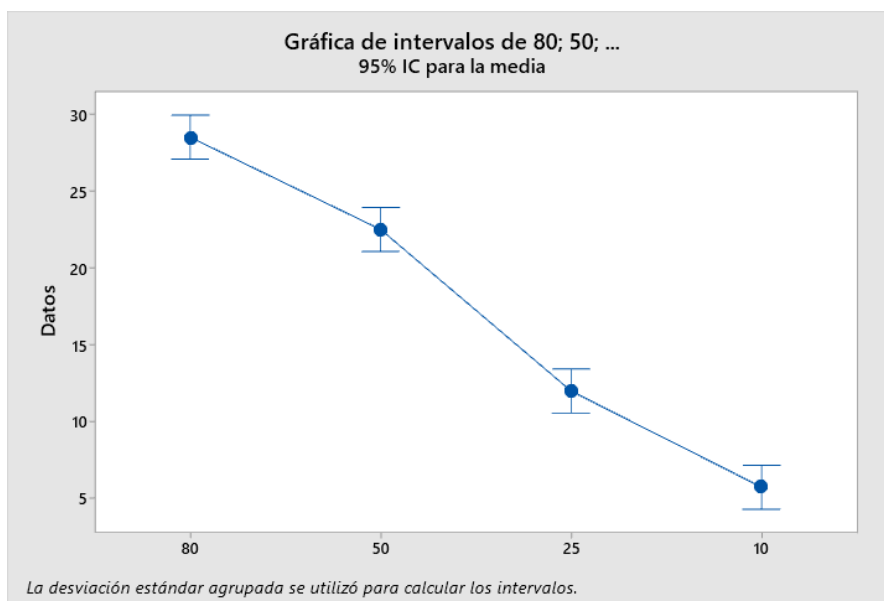
*Análisis de Varianza.*

<b>Fuente</b>	<b>GL</b>	<b>SC Ajust.</b>	<b>MC Ajust.</b>	<b>Valor F</b>	<b>Valor p</b>
Factor	3	1255,69	418,562	242,06	0,000
Error	12	20,75	1,729		
Total	15	1276,44			

Se realizó una gráfica como se muestra en la Figura 23, en el programa Minitab comparando las medidas de los halos de inhibición con las diferentes concentraciones del aceite, observando la mayor medida en la concentración más alta que representaría al 80% y la menor al 10%.

**Figura 23**

*Gráfica de halos de inhibición a diferentes concentraciones.*



*Nota:* El programa Minitab dibuja las Medias de cada concentración y las interpreta en la gráfica.

Por otra parte, se realizó un análisis a las distintas concentraciones frente al control positivo, determinando su media, y observando que existe una similitud a una concentración del 80% y 50%, siendo así una opción para tratar esta enfermedad como una alternativa natural con el aceite esencial de *Latana camara L.*

**Tabla 18**

*Medias de Halos de inhibición Frente al control positivo.*

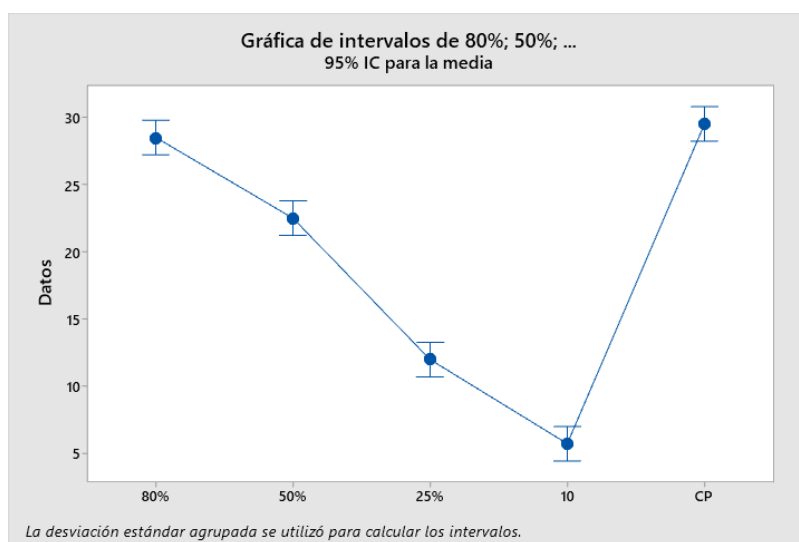
Factor	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
80%	4	28,500	1,732	(27,217; 29,783)
50%	4	22,500	1,732	(21,217; 23,783)
25%	4	12,000	0,816	(10,717; 13,283)
10%	4	5,750	0,500	(4,467; 7,033)
CP	4	29,500	0,577	(28,217; 30,783)

*Desv.Est. agrupada = 1,20416*

De acuerdo con el tamaño de los halos de inhibición obtenidos en cada una de las cajas Petri, se calculó la media aritmética representada en la Figura 24, observando una inhibición alta correspondiente a la concentración del 80% similar al control positivo que se encuentra a nivel comercial dentro de las formulaciones para el tratamiento de esta enfermedad.

### Figura 24

*Gráfica de halos de inhibición frente al control positivo.*



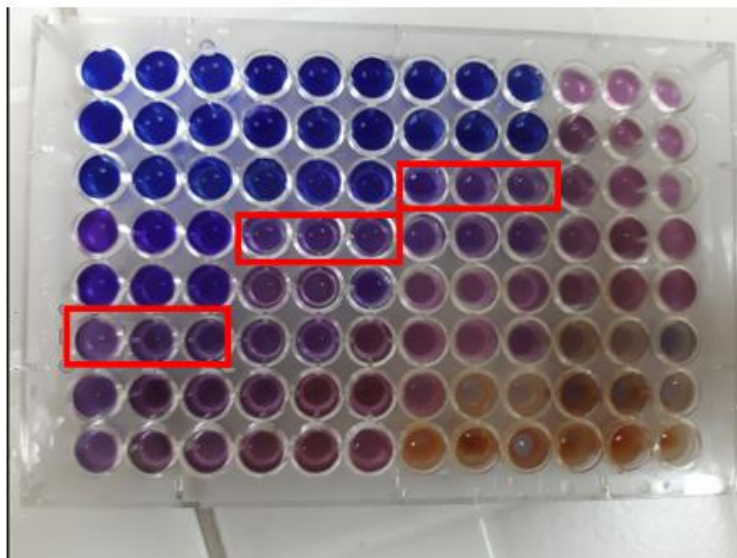
#### 4.5 Determinación de la CMI del aceite esencial por microdilución en caldo

Para la determinación de la CMI del aceite esencial de *Lantana camara L*, frente al hongo *Microsporium canis* se realizó la prueba por microdilución en caldo dando resultados colorimétricos, representando el color azul, ausencia de células vivas, el color rosado; células vivas, finalmente el color morado representa una incertidumbre entre células vivas o muertas.



**Figura 25**

*Puntos de corte en el revelado de placa.*



Fuente: Autora.

De acuerdo con la colorimetría los puntos de corte del aceite esencial de *Lantana camara* *L*, que se colocaron a dos concentraciones distintas, al 40% y 15% inicial, sus puntos de corte se encuentran en 1.25, 1.87, respectivamente. Fue comparada con la investigación realizada por (Sreeramulu et al., 2017), donde realiza el método de microdilución, teniendo similitud en los resultados. El control positivo se lo aplicó al 2% siendo su punto de corte 0.5%.

Se comprobó la efectividad del aceite esencial, sembrando los puntos de corte que existieron, se los incubó a una temperatura de 25°C durante 5 días, en donde no existió crecimiento.

**Figura 26**

*Sembrado de puntos de corte.*



*Nota:* No existió crecimiento del hongo *Microsporium canis*, demostrando que existe inhibición en los puntos de corte. Fuente: Autora

## Capítulo 5

### 5.1 Conclusiones:

El uso de aceites esenciales para el tratamiento de enfermedades puede ser una alternativa de gran importancia ya que ayudaría a reducir el riesgo de efectos secundarios causados por productos químicos presentes en el mercado, a través de la elaboración de esta tesis, se planteó evaluar la actividad antifúngica del aceite esencial de *Lantana camara L.* frente al hongo *Microsporium canis* causante de dermatofitosis. Una vez culminados los estudios realizados se obtuvo las siguientes conclusiones:

El método de arrastre de vapor utilizado para la obtención del aceite esencial de *Lantana camara L.* fue eficaz; se realizaron múltiples pruebas fisicoquímicas obteniendo un aceite con características optimas tales como su densidad, pH, índice de refracción y solubilidad en etanol, y un rendimiento del 0.029%. Por lo tanto, debido a la disponibilidad del mismo resulta ser un buen candidato para su uso como antifúngico

El hongo *Microsporurm canis*, es un hongo dermatofito el cual fue aislado e identificado con ayuda de una lampara de Wood debido a su fluorescencia en la piel de animales, este crece a temperaturas entre 25 y 30 °C siendo la temperatura optima de crecimiento a 27.5 °C, lo que aceleró su crecimiento.

Con esta investigación se logró evaluar mediante pruebas de microdilución en caldo y difusión en agar la actividad antifúngica del aceite esencial de *Lantana camara L.* frente al hongo *Microsporium canis*, obteniendo una CMI del 1.25 % con la que el aceite esencial en dilución

impide el crecimiento. Por lo que, el aceite esencial de *Lantana cámara L.* podría ser utilizado como una alternativa en el tratamiento de la dermatofitosis a una concentración de 1.87% *in vitro*, y de esta manera se podría emplear como un tratamiento eficaz debido al diámetro similar entre el halo de inhibición a una concentración de 80% comparado con Enilconazol que es utilizado para el tratamiento de esta enfermedad, pudiendo evitar efectos secundarios causados por los mismos.

De acuerdo con las pruebas realizadas tanto microdilución en caldo como la técnica de difusión en agar empleando discos, demostraron que el aceite esencial de *Lantana camara L.* impide el crecimiento del hongo *Microsporum canis*, por lo que la hipótesis de esta investigación fue verificada y sustentada bajo las pruebas realizadas que fueron comparadas entre el aceite esencial y el antifúngico comercial.

## 5.2 Recomendaciones:

De acuerdo con la obtención de muestras para el aislamiento del hongo *Microsporum canis*, es recomendable luz UV, para su identificación de acuerdo con la fluorescencia características de este hongo, siendo un método más rápido y eficaz, ya que existen características en lesiones de piel similares que son causadas por otro tipo de hongos.

Referente a la cepa de *Microsporum canis* es recomendable la incubación del hongo a temperaturas mayores a 27 °C para acelerar el tiempo de crecimiento y lograr una identificación de manera temprana, así como la generación de esporas.

Con respecto al aceite esencial de *Lantana camara L.*, se recomienda una posible investigación *in vivo* mediante la formulación de una crema para determinar su eficacia.

Investigar sobre la efectividad del aceite esencial de *Lantana camara L.* en otro tipo de enfermedades cutáneas tanto en animales como en personas, ya que, gracias a sus componentes activos, ha sido utilizado para tratar varios tipos de enfermedades cutáneas.

Por otra parte, se recomienda determinar la actividad fungicida del aceite esencial de *Lantana camara L.* frente a hongos diferentes al género *Microsporum*, así como evaluar la actividad acaricida del aceite esencial, siendo estos los principales en causar lesiones cutáneas en la piel de animales y personas.

## Bibliografía

- Arenas Guzmán, R. (2008). *Micología medica Ilustrada*.
- Ashish, S., Sadaf, Q., Kavita, S., & Noor Afshan, K. (2011). Antimicrobial activity of *Lantana camara* L. *Journal Of experimental Sciences*, 2. <https://updatepublishing.com/journal/index.php/jes/article/view/1890>
- Bashir, S., Jabeen, K., Javed, S., & Naeem, A. (2019). *Lantana camara*: Phytochemical Analysis and Antifungal Prospective. *SCielo*. <https://doi.org/10.1590/S0100-83582019370100137>
- Bhavya, B. M. (2018). Antifungal activity of *Lantana camara* L., rhizosphere bacteria. *Eurasian Journal of Bioscience*, 245-251.
- Biasi-Garbin, R. P., Demitto, F. de O., Amaral, R. C. R. do, Ferreira, M. R. A., Soares, L. A. L., Svidzinski, T. I. E., Baeza, L. C., & Yamada-Ogatta, S. F. (2016). ANTIFUNGAL POTENTIAL OF PLANT SPECIES FROM BRAZILIAN CAATINGA AGAINST DERMATOPHYTES. *Revista Do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 58. <https://doi.org/10.1590/S1678-9946201658018>
- Cabañes, J. F. (2000). Dermatofitosis animales. Recientes avances. *Iberoam Micol*, 5.
- Cabeza, M. J. (2010). *DERMATOFITOSIS EN PERROS Y GATOS Clinica Veterinaria en Leon*. <https://mariacabeza.com/dermatofitosis-en-perros-y-gatos/>
- Calderón Castilla, R. E., & Calderón Moreno, N. M. (s. f.). AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE *Microsporum canis* EN UN CASO DE DERMATITIS CANINA. *Farmacología Veterinaria*, 1(2016).
- Cárdenas, J. E. P. (2012). *ASPECTOS ACTUALES SOBRE LAS DERMATOFITOSIS Y SUS AGENTES ETIOLÓGICOS*. 17.

Castro Castro, A. V. (2015). *IDENTIFICACIÓN DE DERMATOFITOS Y SU RELACIÓN CON TIÑA CAPITIS*". 95.

Chacón-Cardona, G. (2016). Frecuencia de dermatomicosis y factores asociados en población vulnerable. Manizales, Colombia. *Salud Publica*.  
<https://doi.org/10.15446/rsap.v18n6.51794>

Deena, M., & Thoppil, J. (2000). Antimicrobial activity of the essential oil of Lantana camara. *Fitoterapia*.

Dentone, S., & Siever Morales, C. (2017). Determinación in vitro de la Actividad Antimicótica del Aceite de Romero (*Rosmarinus officinalis*) sobre *Microsporum canis* | Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú. . . *Revista De Investigaciones Veterinarias Del Perú*,  
<https://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/veterinaria/article/view/12932>

Duke, J. A., & Ayensu, Edward S. (1985). *Medicinal plants of China*. Reference Publications.

Fester, G. A. (1961). *Aceites esenciales de la República Argentina*. Academia Nacional de Ciencias ,.

Fraille Ocaña, C., .Zurutuza, I., & Valdivielso, P. (2011). Dermatofitosis en animales de Compañía. Dermatofitosis en animales de Compañía,. *AVEPA*, 4-11.

GIRISH, K. (2017). ANTIMICROBIAL ACTIVITIES OF LANTANA CAMARA LINN. | Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 10(3), 57-67.  
<https://doi.org/10.22159/ajpcr.2017.v10i3.16378>

Gordillo Cabrera, E. (2010). Manual práctico de toma y manejo de muestras en perros y gatos. *Manual practico de toma de muestras en perros y gatos*, 26-27.

- Granjero, E. C., & Garcia Vasquez, Z. (2000). *Prevalencia de dermatofitosis en perros*.  
<https://www.biblioteca.org.ar/libros/90220.pdf>
- Gupta, M. P., CYTED (Organization), & Secretaría Ejecutiva Permanente del Convenio Andrés Bello (Eds.). (1995). *270 plantas medicinales iberoamericanas* (1. ed). Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo, Subprograma de Química Fina Farmacéutica : Convenio Andres Bello.
- Koh, H. L., Chua, T. K., & Tan, C. H. (2009). *A Guide to Medicinal Plants: An Illustrated, Scientific and Medicinal Approach*. WORLD SCIENTIFIC.  
<https://doi.org/10.1142/7113>
- Kosalec, I., Pepeljnjak, S., & Kuštrak, D. (2005). Antifungal activity of fluid extract and essential oil from anise fruits (*Pimpinella anisum* L., Apiaceae). *Acta Pharmaceutica*, 55(4), 377-385.
- Malbrán, C. G. (s. f.). *METODO DE DETERMINACION DE SENSIBILIDAD MICROBIANA POR DILUCION* (Vol. 32).
- Merchant, S. R. (2016). *Ringworm (Dermatophytosis) in Dogs and Cats*. Veterinary Manual. <https://www.msdsvetmanual.com/cat-owners/ear-disorders-of-cats/undefined>
- Miller, W. H., Griffin, C. E., & Campbell, K. L. (2014). *Muller y Kirk: Dermatología en pequeños animales*. Inter Médica.
- Molina de Diego, A. (2011). Aspectos clínicos, diagnósticos y terapéuticos de las dermatofitosis. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 29, 33-39.  
[https://doi.org/10.1016/S0213-005X\(11\)70025-8](https://doi.org/10.1016/S0213-005X(11)70025-8)



Moriello, K. A., & Newbury, S. (2008). Recommendations for the Management and Treatment of Dermatophytosis in Animal Shelters. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice*, 36(1), 89-114. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2005.09.006>

Namuche Machco, J. C., & Valdiviezo Campos, J. E. (2017). Características fisicoquímicas y porcentaje relativo de los componentes hidrocarbonados y oxigenados del aceite esencial de las hojas de lantana cámara l. "Santa maría". *Universidad Nacional de Trujillo*. <http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/5851>

Oyourou, J.-N., Combrinck, S., Regnier, T., & Marston, A. (2013). Purification, stability and antifungal activity of verbascoside from *Lippia javanica* and *Lantana camara* leaf extracts. *Industrial Crops and Products*, 43, 820-826. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.08.028>

Pardo, A. K., Arenas, J. J., Gómez, M., Lora, F. M., & Gómez, J. E. (2011). Determinación de la actividad antifúngica de extractos de *Lantana camara* frente a *Candida* spp. *Infectio*, 15(4), 235-242. [https://doi.org/10.1016/S0123-9392\(11\)70737-8](https://doi.org/10.1016/S0123-9392(11)70737-8)

Passos, J. L., Barbosa, L. C. A., Demuner, A. J., Alvarenga, E. S., Silva, C. M. da, & Barreto, R. W. (2012). Chemical Characterization of Volatile Compounds of *Lantana camara* L. and *L. radula* Sw. And Their Antifungal Activity. *Molecules*, 17(10), 11447-11455. <https://doi.org/10.3390/molecules171011447>

Pemán, J., Martín-Mazuelos, E., & Rubio Calvo, M. C. (2001). *Guía práctica de identificación y diagnóstico en micología clínica*. Revista Iberoamericana de Micología.

Porton, J., Morales, M., Gene, J., Guarro, J., & Quindos, R. (2012). Hongos y Actinomicetos Alergénicos. *Revista Iberoamericana de Micología*,. <http://hongos-alergenicos.reviberoammicol.com/>

Pumaylle, K. O., Quiroz, L. R. P., Luján, D. L. B., & Paz, R. J. S. (2012). Extracción, caracterización y evaluación de la actividad antibacteriana del aceite esencial de *Senecio graveolens* Wedd (Wiskataya). *Scientia Agropecuaria*, 3(4), 291-302.

Rengifo, E., Fernandez, C., & Vargas-Arana, G. (2010). Búsqueda y Evaluación de Aceites Esenciales en Especies Amazónicas. *Folia Amazonica*, 19, 29.

<https://doi.org/10.24841/fa.v19i1-2.340>

Rippon, J. W., & Castañeda, L. (1992). *Micología médica: Hongos y actinomicetos patógenos*. Nueva Edit. Interamericana : McGraw-Hill.

Rodríguez, J. A. (2010). *Recomendaciones del Grupo de Trabajo Enfermedades Infecciosas (GTEI) de la Sociedad Española de Medicina Intensiva, Crítica y Unidades Coronarias (SEMICYUC) y el Grupo de Estudio de Infecciones en el Paciente Crítico (GEIPC) de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología clínica (SEIMC) para el diagnóstico y tratamiento de la gripe A/H1N1 en pacientes adultos graves hospitalizados en las Unidades de Cuidados Intensivos.*

[https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0210-56912012000200006](https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0210-56912012000200006)

Roy, S., & Barua, A. K. (1985). The structure and stereochemistry of a triterpene acid from *lantana camara*. *Phytochemistry*, 24(7), 1607-1608. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)81077-8](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)81077-8)

Saikia, A. K., & Sahoo, R. K. (2011). *Chemical Composition and Antibacterial Activity of Essential Oil of Lantana camara L.* 4.

Spiewak, R., & Szostak, W. (2000). Zoophilic and geophilic dermatophytoses among farmers and non-farmers in Eastern Poland. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine: AAEM*, 7(2), 125-129.

Sreeramulu, A., Arunakumari, M., & Reddy, P. (2017). *Antifungal Activity of Wild Sage (Lantana camara) against Colletotrichum falcatum*. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2017.602.208>

Sykes, J., & Greene, C. (2011). *Infectious Diseases of the Dog and Cat—4th Edition* (4.<sup>a</sup> ed.). <https://www.elsevier.com/books/infectious-diseases-of-the-dog-and-cat/sykes/978-1-4160-6130-4>

Tabuti, J. R. S., Kukunda, C. B., & Waako, P. J. (2010). Medicinal plants used by traditional medicine practitioners in the treatment of tuberculosis and related ailments in Uganda. *Journal of Ethnopharmacology*, 127(1), 130-136. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2009.09.035>

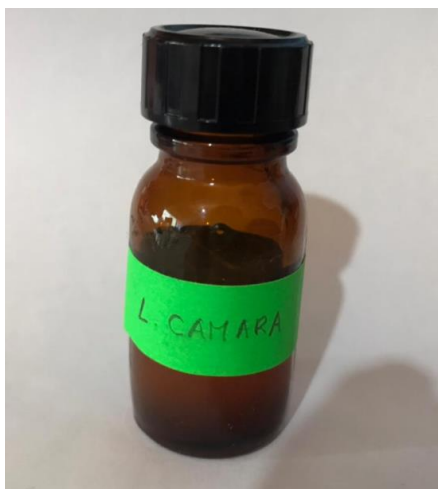
Taroco, R., Seija, V., & Vignoli, R. (2006). *Métodos de estudio de la sensibilidad antibiótica*.

*USDA Plants Database*. (s. f.). Recuperado 30 de septiembre de 2021, de <https://plants.sc.egov.usda.gov/home>

Valdez Tenezaca, A. V. (2018). “*EVALUACIÓN DE ÍNDICES DE TOXICIDAD DEL ACEITE ESENCIAL DE LANTANA CAMARA EN DROSOPHILA MELANOGASTER*”. Universidad de Cuenca.

Valencia Cantuña, V. O. (2018). “*EVALUACIÓN IN VITRO DEL EFECTO ANTIBACTERIANO DEL ACEITE ESENCIAL DE LANTANA CAMARA SOBRE EL MICROORGANISMO STAPHYLOCOCCUS AUREUS*”. [Universidad Central del Ecuador]. <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/15242/1/T-UCE-0015-912-2018.pdf>

Viani, F. C., Santos, J. I. D., Paula, C. R., Larson, C. E., & Gambale, W. (2001). Production of extracellular enzymes by *Microsporium canis* and their role in its virulence. *Medical Mycology*, 39(5), 463-468. <https://doi.org/10.1080/mmy.39.5.463.468>

**ANEXOS**ANEXO I Aceite esencial de *Lantana camara* L.

## ANEXO II: Prueba de solubilidad en etanol



ANEXO III: Perros infectados de los que se tomó las muestras



#### ANEXO IV: Toma de muestras



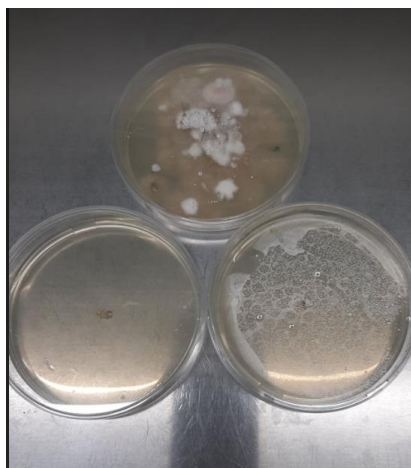
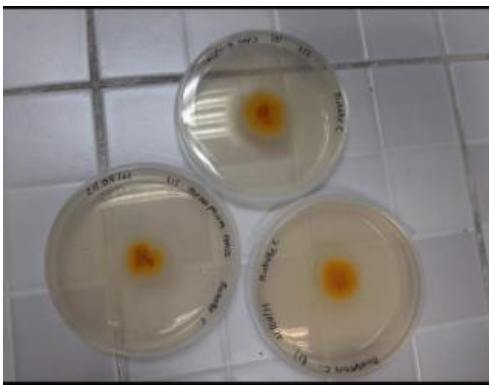
#### ANEXO V: Sembrado de muestras



## ANEXO VI: Identificación micológica



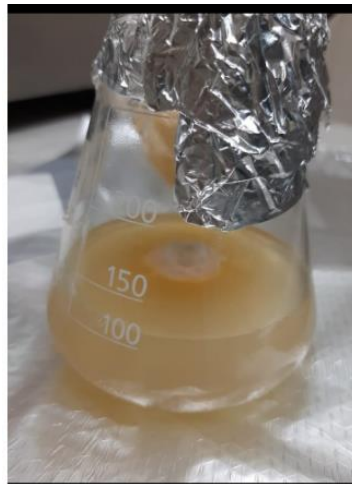
## ANEXO VII: Resembrado de muestras para obtención de cepa pura.

ANEXO VIII: Colonias de *Microsporium canis*.

ANEXO IX: Materiales utilizados para el lavado de esporas



ANEXO X: Sembrado del hongo en matraz para el lavado de esporas



ANEXO XI: Cepa pura para el lavado de esporas





ANEXO XII: Solución estandarizada del inóculo.



ANEXO XIII: Medición de los halos de inhibición

