

UNIVERSIDAD PRIVADA ANTENOR ORREGO
FACULTAD DE MEDICINA HUMANA
ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA HUMANA



**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE MÉDICO
CIRUJANO**

**EFICACIA ANTIFÚNGICA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE
Eucalyptus globulus SOBRE *Candida albicans* IN VITRO**

AUTORA: MACEDO RAMÍREZ YVON CHRISTINA

ASESORA: MEJÍA DELGADO ELVA MANUELA

Trujillo – Perú

2018

FIRMAS DE JURADOS Y ASESOR

PRESIDENTE

SECRETARIO

VOCAL

DEDICATORIA

A DIOS por su inmenso amor incondicional que siempre me demuestra, por permitirme sentir la alegría de alcanzar mis metas, pero sobre todo por ponerme en el camino personas maravillosas con quien pueda compartirlas.

A mi hermosa familia, por ser mi motivo y mi impulso a salir adelante día a día; en especial a mis padres y mi tía Martha Ramírez por su confianza y apoyo en el logro de alcanzar mis sueños de servir a nuestra población en el campo de la salud.

A Mis Abuelas María Quito y Estela Vásquez, que aunque no estén físicamente presente, recuerdo sus enseñanzas todos los días, a ellas dedico esta tesis con todo el amor de mi corazón.

AGRADECIMIENTOS

A mi asesora de tesis y madrina de promoción, la Dra. Elva Mejía Delgado, quien aceptó guiarme en el inicio, desarrollo y culminación de este trabajo, brindándome su apoyo incondicional, tiempo y consejos para

A mi profesora Kellyn Gómez Castro, por su orientación en el tema de investigación y su incondicional apoyo y buenos consejos en todo tiempo.

A mis maestros, de la Universidad Privada Antenor Orrego, por su enseñanza, dedicación, e inculcarme el cariño y respeto por los pacientes.

A mis queridos amigos; Katherine, Claudia, Carolina, Marlon, Lisseth, Víctor, Milagros, Alex y Sheylla Anabella con quienes compartí estos años de estudio en esta nueva etapa, manteniendo la amistad por sobre todo.

A mi mejor amiga Paola Guerra por su sincera amistad; siempre estar apoyándome y dando ánimos en todo tiempo.

INDICE

RESUMEN	6
ABSTRACT	7
INTRODUCCIÓN.....	8
ENUNCIADO DEL PROBLEMA	14
OBJETIVOS	15
MATERIAL Y METODOS.....	16
RESULTADOS	21
DISCUSIÓN	25
CONCLUSIONES	28
SUGERENCIAS	29
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	30
ANEXOS.....	35

RESUMEN

Objetivo: Evaluar la eficacia antifúngica de *Eucalyptus globulus* sobre *Candida albicans*.

Materiales y Métodos: Se realizó un estudio analítico, transversal, experimental prospectivo durante 2018 en 60 placas con cepas de *Candida albicans*. La muestra, obtenida con fórmula, se dividió en 50 repeticiones para el grupo experimental y 10 para los controles.

Resultados: La eficacia inhibitoria de *Eucalyptus globulus* sobre *Cándida* no mostró diferencia estadística significativa frente al fluconazol ($p>0.05$). La concentración del extracto al 100% de pureza, en cuanto a susceptibilidad sobre *Cándida albicans*, no mostró diferencia estadística significativa frente al fluconazol.

Conclusiones: *Eucalyptus globulus* mostró eficacia similar al fluconazol. La susceptibilidad del extracto también fue similar al fluconazol únicamente para la concentración al 100%.

Palabras Clave: *Cándida albicans*, *Eucalyptus globulus*, eficacia.

ABSTRACT

Objective: To evaluate the antifungal efficacy of *Eucalyptus globulus* on *Candida albicans*.

Material and Method: An analytical, cross-sectional, prospective experimental study was carried out during 2018 in 60 plates with strains of *Candida albicans* in the National University of Trujillo. The sample, obtained by formula, was divided into 50 repetitions for the experimental group and 10 for the controls.

Results: The inhibitory efficacy of *Eucalyptus globulus* on *C. albicans* showed no significant statistical difference compared to fluconazole ($p > 0.05$). The concentration of the extract at 100% purity, in terms of susceptibility to *Candida albicans*, showed no significant statistical difference with fluconazole.

Conclusions: *Eucalyptus globulus* showed efficacy similar to fluconazole. The susceptibility of the extract was also similar to fluconazole only for the 100% concentration.

Keywords: *Candida albicans*, *Eucalyptus globulus*, efficacy.

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Marco teórico:

Las infecciones vaginales tan particulares en las mujeres de todas las edades, destacando las producidas por *Candida*, este agente patógeno se presenta en un tercio de las pacientes que se diagnostica vulvovaginitis, En México, la frecuencia de aislamiento de *Candida spp.* se estima entre ¼ y medio ciento de la población lo presenta. *Candida albicans*, forma parte de la flora normal del aparato respiratorio, digestivo y genital femenino puede provocar una infección sistémica, tromboflebitis, endocarditis, entre otras. ^(1, 2)

Es el agente causal más importante de las infecciones oportunistas por hongos y un problema creciente en todo el mundo. El género *Candida* incluye cientos de especies, de las cuales más de 40 se han recuperado de muestras humanas y están implicadas en infecciones que ponen en peligro la vida, particularmente en huéspedes inmunocomprometidos. Son una de las causas más comunes de infección del torrente sanguíneo y uno de los aislados más frecuentes de pacientes infectados en unidades de cuidados intensivos (UCI) en muchos países. ⁽³⁾

De las levaduras aisladas de vagina a partir de un 85% pertenecen a la especie *Cándida albicans*. En los Estados Unidos de América (EEUU), las molestias a nivel vaginal constituyen una de las principales causas por las que las mujeres buscan la ayuda de los ginecólogos, existiendo más de 10 millones de consultas al año. Las mujeres obesas y con diabetes *mellitus* descompensada presentan una mayor prevalencia. ⁽⁴⁾

La manera en que este hongo llega a tener acceso al lumen vaginal es a través de la invasión por la región perianal adyacente, además para la colonización se requiere la adherencia de las levaduras a las células epiteliales con adhesinas. El proceso infeccioso es mediado por enzimas proteolíticas, fosfolipasas y aspartil-proteinasas que son sintetizadas a partir de los genes *SAP1*, *SAP2* y *SAP3*. La capacidad del hongo para cambiar de forma reversible entre la

levadura, pseudohifas y morfologías de hifas es ampliamente conocida y es esencial para la patogenicidad en los planos superficiales y sistémicos.^(4,5)

La morfogénesis de las hifas se acopla con la virulencia, los genes que controlan la morfología hifa son co-regulados por genes que codifican factores de virulencia. Genes hifa específicos Ume6 y HGC1 son reguladores de la transcripción de las hifas y la morfogénesis. Los niveles de factor de transcripción Ume6 controlan los niveles y la duración de la hifa. Tsai y colaboradores caracterizaron el gen Hom6 y demostraron su participación en la síntesis de proteínas y en la adhesión celular, lo que puede representar un objetivo prometedor para el desarrollo de nuevos antifúngicos.^(5,6)

La transición de levadura a las hifas de *Candida albicans* está vinculada a una serie de propiedades importantes para sus interacciones con el hospedero: adhesión a células epiteliales y endoteliales; invasión primaria e intercelular a través de endocitosis inducida y la penetración; y escapar de los fagocitos y la evasión inmune. El tratamiento para combatir la candidiasis puede ser tópico o sistémico según el tipo de infección, los antifúngicos más utilizados son los derivados imidazólicos (fluconazol, itraconazol, ketoconazol, miconazol), sin embargo en la actualidad se observa una disminución en la efectividad de estos medicamentos.^(7, 8)

Es decir, un fenómeno de resistencia de parte del microorganismo a estos fármacos, esto debido principalmente, al surgimiento de levaduras resistentes, a la aparición de nuevas especies patógenas, a la prescripción irracional de antimicóticos como profilaxis y al aumento de las dosis terapéuticas. Históricamente, el arsenal farmacéutico humano es muy endeudado con la naturaleza y en particular con los productos naturales obtenidos de las plantas medicinales tradicionales, hongos y bacterias. Hasta la fecha, los productos naturales y sus derivados derivan de una cuota de mercado sustancial, que comprende el 61% de los compuestos anticancerígenos y el 49% de los anti infecciosos aprobados en los últimos 30 años.^(8,9)

En las plantas medicinales, estos compuestos se consideran como productos naturales bioactivos y, en última instancia, pueden desarrollarse como fármacos. En los últimos años se ha observado un mayor interés por los compuestos bioactivos producidos por organismos como las plantas, hongos y bacterias, ya que es muy probable que posean potencial farmacológico y biotecnológico. Las bacterias resistentes a los antibióticos comunes han alcanzado niveles alarmantes en muchas partes del mundo, indicando que muchas de las opciones de tratamiento disponibles para las infecciones normales se están volviendo ineficaces, lo que está causando enfermedades prolongadas, estancias prolongadas en hospitales y mayor mortalidad. ^(9,10)

Es consensuado que el desarrollo de nuevos fármacos antimicrobianos y terapias alternativas es crucial y urgente. La medicina tradicional abarca una amplia variedad de terapias y prácticas que varían entre países y entre regiones. En algunos países se denomina medicina «alternativa» o «complementaria», la cual se viene utilizando desde hace miles de años, contribuyendo enormemente a la salud humana. En África, el uso terapéutico de las plantas en las prácticas tradicionales de salud es común y extendido, antes de la introducción de los antibióticos y otros medicamentos modernos. ^(10, 11,12)

La OMS reconoce que en la actualidad más del 80% de la población mundial utiliza la medicina tradicional como principal recurso para el cuidado de la salud y, dentro de la medicina tradicional, las plantas son el principal elemento empleado. El Perú cuenta con una mega diversidad de plantas, de las cuales muchas son plantas medicinales cuyas partes o extractos se utilizan como drogas o medicamentos para el tratamiento de alguna afección o enfermedad que padece un individuo. ^(13,14)

Se han utilizado diversas técnicas microbiológicas para demostrar la actividad antimicrobiana de plantas frente a microorganismos patógenos para el hombre. Entre ellas la utilización de extractos de plantas; es una mezcla compleja, con multitud de compuestos químicos, obtenible por procesos físicos, químicos y/o microbiológicos a partir de una fuente natural y utilizable en cualquier campo de

la tecnología. Para la preparación del extracto el etanol es uno de los disolventes orgánicos más utilizados. ^(15,16)

La capacidad de solubilizar una amplia variedad de sustancias, bajo precio, toxicidad relativamente baja y el hecho de ser un solvente favorable al medio ambiente están entre las propiedades más atractivas que hacen los extractos etanólicos populares. Dependiendo del método de preparación, no hay necesidad de eliminación previa de etanol. Tomando como ejemplo la técnica de desplazamiento con disolvente, el extracto etanólico se puede añadir a la fase orgánica y el disolvente se separa al final de la formación de nano partículas / nano emulsiones. ⁽¹⁶⁾

El género *Eucaliptus*, con más de 700 especies, es una de las principales fuentes de madera dura en todo el mundo y el árbol más utilizado en las plantaciones industriales. Se encuentra taxonómicamente en la familia *Myrtaceae*, subfamilia *Leptospermoidae*, el árbol es originario de Australia, Tasmania y diversas islas de la zona. Se ha distribuido artificialmente en zonas de clima mediterráneo, subtropical y tropical. Además existe una variabilidad en su tamaño ya que estos pueden ser eucaliptos arbóreos y otros arbustivos. ^(17,18)

Se cultiva principalmente por su madera, pulpa y aceites esenciales que presentan propiedades medicinales y usos terapéuticos. Se considera una fuente importante de aceites esenciales utilizados en la medicina tradicional. El eucalipto tiene muchas propiedades benéficas para la salud humana y animal así como también para el control de enfermedades causadas por hongos debido a su composición es decir sus principios activos. El principal componente del aceite esencial es el éter óxido terpénico cineol o eucaliptol, constituyendo el 70-80%. ^(19,20)

Los aceites esenciales también tienen menos probabilidades de estar asociados con el desarrollo de resistencia por hongos, como se observa con fungicidas

sintéticos, y son menos peligrosos para el medio ambiente y la salud humana. El abordaje terapéutico de las infecciones nosocomiales es un gran desafío debido a la resistencia desarrollada por los patógenos hacia una serie de fármacos ampliamente utilizados. Por lo tanto, el uso de aceites esenciales para la prevención y el tratamiento de las infecciones ha ido ganando popularidad en el campo de la investigación durante la última década. (21,22)

Muchos extractos de plantas y aceites esenciales tienen actividad biológica tanto in vitro como in vivo, lo que ha justificado la investigación de la medicina tradicional centrada en la caracterización de su actividad antimicrobiana. Los aceites de eucalipto actúan como fungicidas y fungicidas contra *C. albicans*. En el Perú, las plantaciones de este árbol fueron creciendo en los últimos años (23,24).

Esta especie presenta glándulas las cuales producen aceites esenciales a nivel de las hojas, que dan su característico olor. Las maneras para pueden ser diferentes tales como; destilación con vapor de agua, extracción con solventes volátiles, enflorado y con fluidos supercríticos. Hay al menos un aceite esencial que puede erradicar la infección fúngica de forma permanente y dentro de sólo unos pocos días. Desde entonces, ha habido muchos estudios sobre aceites esenciales y los efectos de sus componentes sobre *Candida albicans*. (24,25)

Estos aceites contienen 20 a 80 compuestos, los más principales son terpenos y terpenoides de *Eucalyptus* que causan la inhibición del crecimiento de algunas especies de hongos como en el caso de *C. albicans*. Vratnica y col. determinaron que el principio activo de *E. globulus* es el cineol, esta planta contiene un alto contenido de 1,8-cineol. Hendry et al. probaron 1,8-cineol contra *Candida albicans*. Se describe que el *Eucalyptus* es una rica fuente de productos naturales bioactivos que incluyen terpenoides, taninos, flavonoides, glucósidos cardiacos y derivados de floglucinol, y esto se ha atribuido a los efectos sinérgicos de numerosos compuestos bioactivos en estas plantas. (26, 27,28)

Aunque los compuestos fenólicos solubles y taninos, pueden tener una corta vida útil en los suelos, el efecto de los aceites puede extenderse debido a su hidrofobicidad y vesículas de aceite de prolongada integridad. El aceite esencial de *Eucalyptus* posee un amplio espectro de actividad biológica, incluyendo propiedades antimicrobianas, fungicidas, insecticidas / repelentes de insectos, herbicidas, acaricidas y nematocidas. El aceite esencial de *Eucalyptus* se puede obtener de varias partes diferentes de la planta, sin embargo, la mayor concentración de aceite esencial de *Eucalyptus* se ha encontrado en las hojas. Se ha analizado las hojas de eucalipto por cromatografía de gases y reportaron monoterpenos como agentes antimicrobianos principales de la planta. (29, 30, 31)

Los aceites de *E. globulus* exhibieron una actividad antibacteriana significativa como se observa por su zona de inhibición. Los aceites esenciales de *E. globulus* inhibieron el crecimiento de las bacterias, mostrando efectos antifúngicos contra uno o más microorganismos. El rendimiento de extracción de extractos de aceites esenciales de la fruta de *E. globulus* es alto con el predominio de sesquiterpeno y sesquiterpeno oxigenado. Parte de su pobre actividad antioxidante, los extractos de aceites esenciales de *E. globulus* estudiados han mostrado una interesante actividad antibacteriana frente a microorganismos patógenos. (32,33)

1.2. Antecedentes

Alzamora L, et al en un estudio que hizo utilizar aceite extraído de *Eucalyptus globulus* con el método de arrastre por destilación sobre *Candida spp* observando una zona de inhibición de 14 mm de tal modo demostró que es sensible al estar en contacto con dicha sustancia. Damjanovic B. Y col determinaron la actividad antimicrobiana contra 17 microorganismos, demostró que la composición química del aceite esencial de *E. globulus* analizado a través de la cromatografía de espectrometría presentaba este efecto. (34,35)

Martins N et al. El extracto de *Eucalyptus globulus* también presentó un potencial antifúngico significativo, siendo eficaz contra diecisiete cepas de *Candida albicans* (diámetro de halo entre 9-21 mm). (36)

Rodríguez B Y Col. Estudiaron la actividad antifúngica in vitro, se realizaron extractos etanólicos también se prepararon los cultivos de las cepas *Candida albicans*, estos fueron fusionados con la prueba de difusión en disco. Hallándose halos de inhibición (16 mm) donde se manifestaba dicha actividad. De tal modo que estadísticamente no se encontró diferencia significativa ($p > 0.05$) de los extractos etanólicos sobre *Candida sp.* (37).

1.3. Justificación

Actualmente se están realizando investigaciones sobre muchos extractos de plantas y aceites esenciales encontrando que tienen actividad biológica tanto in vitro como in vivo, lo que ha justificado la investigación de la medicina tradicional, el *Eucalyptus globulus* es una planta que ha sido estudiada para evaluar su efecto antimicrobiano, antecedentes mencionan que los aceites de eucalipto actúan como fungicidas contra *Candida albicans*. Se han desarrollado diversas técnicas microbiológicas entre ellas la utilización de extractos de plantas; sin embargo no hay muchos estudios acerca de la eficacia específicamente del extracto de las hojas de *Eucalyptus globulus*, a pesar de que en nuestro país tenemos diversas fuentes naturales tal como *Eucalyptus globulus*; accesible a la comunidad, además actualmente existe resistencia a los antibióticos comúnmente utilizados, uno de estos microorganismos es *Candida albicans*; de tal modo que se justifica el uso de medicina natural de manera alternativa.

1.4. Enunciado del problema:

¿Cuál es la eficacia antifúngica del extracto etanólico de *Eucalyptus globulus* sobre *Candida albicans* in vitro?

1.5. Planteamiento de Objetivos:

Objetivo General

Evaluar la eficacia antifúngica del extracto etanólico de *Eucalyptus globulus* sobre *Candida albicans* in vitro.

Objetivos Específicos

- Determinar la concentración mínima inhibitoria del extracto etanólico de *Eucalyptus globulus* sobre *Candida albicans*, mediante la turbidez.
- Comparar la eficacia inhibitoria del extracto etanólico de *Eucalyptus globulus* en diferentes concentraciones sobre *Candida albicans* mediante conteo de UFC.
- Determinar la susceptibilidad de *Candida albicans* frente al extracto etanólico de *Eucalyptus globulus* , mediante la técnica de Kirby-Bauer.

1.6. Hipótesis

H₀= *Eucalyptus globulus* NO es eficaz en la inhibición del crecimiento de *Candida albicans*.

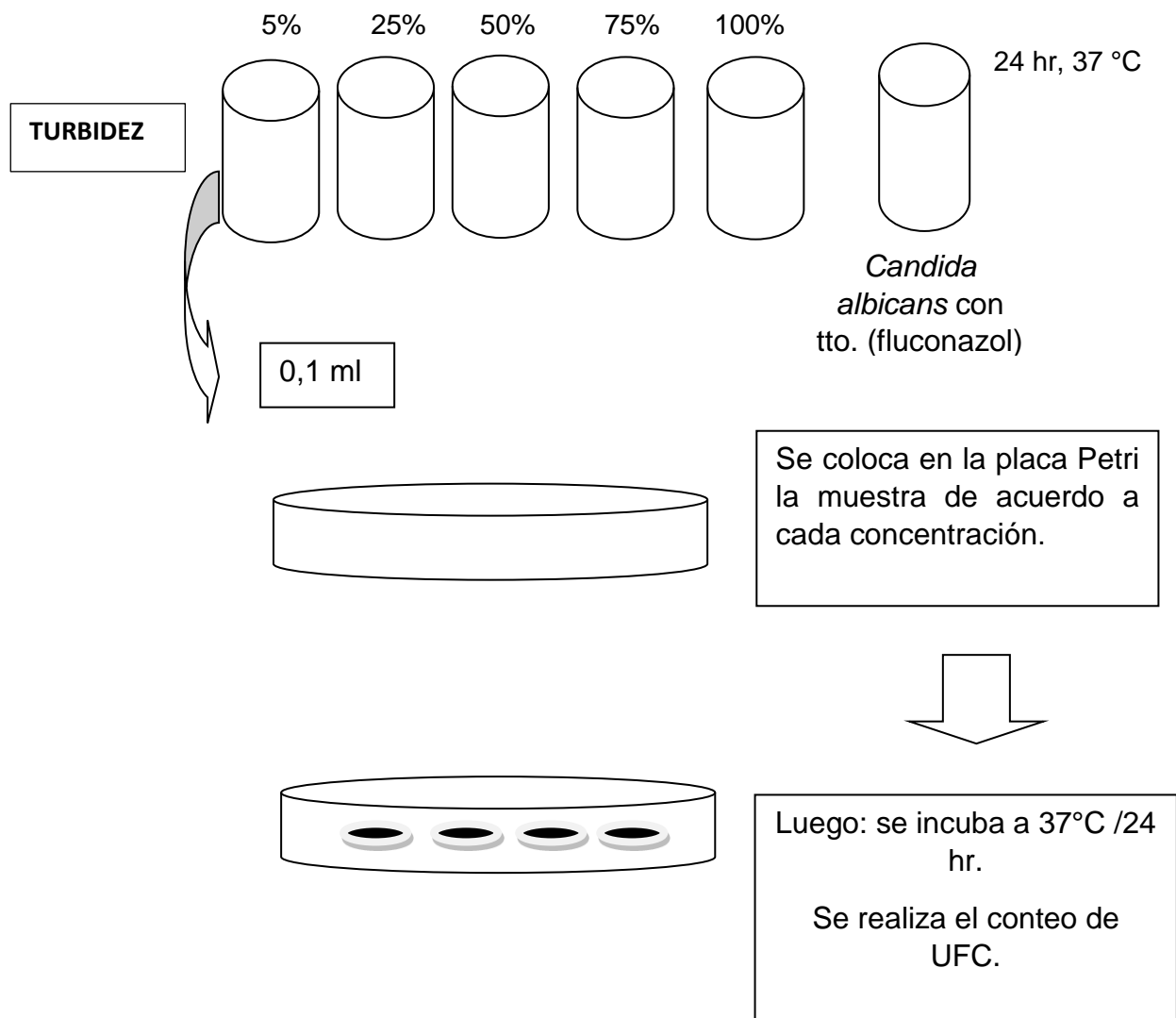
H_a= *Eucalyptus globulus* SI es eficaz en la inhibición del crecimiento de *Candida albicans*.

2. METODOLOGÍA:

2.1 DISEÑO DE ESTUDIO:

Tipo: Analítico, transversal, prospectivo.

Diseño específico: Experimental.



2.2 Población, muestra y muestreo.

2.2.1. Población Universo:

Conjunto de placas inoculadas con las cepas de *Candida albicans*.

2.2.3. Criterios de Selección:

Criterios de Inclusión:

- Cultivos puros obtenidos de *C. albicans*.
- Extractos etanólicos de “eucalyptus”

Criterios de Exclusión:

- Cultivos contaminados de *Candida albicans*.
- Extracto contaminado de “eucalyptus”
- Antisepsia del laboratorio

2.2.4. Muestra

2.2.4.1. Unidad de Análisis:

El medio de cultivo en placa de Petri correspondiente del hongo y el extracto etanólico de la hoja.

2.2.4.2. Tipo y técnica de Muestreo

No probabilístico.

2.3 OPERACIONALIZACIÓN:

VARIABLE	TIPO	ESCALA	INDICADORES	INDICES
INDEPENDIENTE: Extracto etanólico de <i>Eucalyptus globulus</i>	Cualitativa	Ordinal	Concentraciones: 5%, 25%,50%, 75%,100%	5%, 25%,50%, 75%,100%
DEPENDIENTE: Eficacia antifúngica sobre <i>Candida albicans</i> in vitro.	Cuantitativa	De razón	Diámetro de halos de inhibición.	Escala de Duraffourd

➤ Efecto antifúngico:

Cuando la unidad formadora de colonias es cero.

➤ **Halo de inhibición:**

Espacio que rodea al disco donde la sustancia tiene la capacidad de limitar al microorganismo su crecimiento, al cabo de 18 a 24 horas post incubado.

➤ **Escala de Duraffourd:** determinara el efecto de inhibición, según tamaño(38)

- Nula (-) para un tamaño menor a 6 mm.
- Sensibilidad límite (sensible = +) para un tamaño que va entre 8 a 14 mm.
- Medio (muy sensible = ++) para un tamaño de 14 y 20 mm.
- Sumamente sensible (+++) para un tamaño mayor a 20 mm.

2.3 Procedimientos y Técnicas.

El presente se realizó en el laboratorio de Microbiología, de la FM-UNT, ubicada en La Libertad-Perú. Su tipo de institución es Nacional.

- **Recolección de la muestra.**

Se reunió 1 Kg de hojas de la planta a estudiar por la mañana, de Otuzco, región La libertad, durante el mes de febrero del año 2018 (anexo 1).

- **Preparación de la muestra vegetal.**

Seleccionando: la muestra vegetal reunida se llevó al laboratorio de Farmacognosia (anexo 2), se escogieron hojas que estuvieron aptas para el estudio, excluyendo los residuos.

Lavado y desinfección: se lavaron las hojas con agua destilada inmediatamente se efectuó a desinfectar (anexo 3).

Secando: estas hojas fueron colocadas sobre papel Kraft y llevadas al secado con temperatura ambiental por 24 horas (anexo 4), posteriormente colocados en una estufa a una temperatura de 40°C.

Pulverizando: con un molino se llevó el proceso de pulverización (anexo 5).

Tamiz: Los polvos obtenidos fueron tamizados utilizando el tamiz

Almacenando: Fueron conservados en un frasco de vidrio de color ámbar de boca ancha.

- **Preparación:**

Se pesaron con exactitud 300 g de polvo de eucalipto, previamente tamizados (anexo 6). Luego se colocaron en frascos previamente descritos, de capacidad de 1 litro y se añadió etanol al 70° G.L.(anexo 7). Se llegó a mezclar luego macerado durante 7 días, tapándose los envases, agitándose por un tiempo de 15 minutos, dos veces al día. (anexo 8).

Luego se depuró el macerado, al vacío utilizando un filtro de la clase Whatman N° 1 (anexo 9). El resultado en soluciones, se llevaron a secado con una cámara de secado al vacío a baja presión y a una temperatura de 40 °C; luego se pesaron los residuos secos (en total 26.1 gr) guardándose a congelación 2 °C en los envases previamente preparados. Con los residuos secos obtenidos, se prepararon las concentraciones de cinco, veinticinco, cincuenta, setenta y cinco, y cien por ciento en etanol de 70° Gay Lussac respectivamente. Por último, teniendo como resultado los extractos fueron guardados en envases de vidrio de color ámbar y en frío (4-8°C) para su posterior uso.(39)

Cepa Fúngica

La cepa de *Candida* se obtuvo del laboratorio de la Sección Microbiología de la Facultad de Medicina de la UNT, para confirmar la especie se empleó el medio agar Sabouraud y confirmándose con la prueba de los tubos germinales. Luego de identificar y confirmar la cepa como *Candida albicans* fue conservada en tubos con agar Sabouraud para su uso en este estudio.

a. Preparando el inóculo (anexo 10):

Método de suspensión directa de colonias:

El método de suspensión directa de colonias es el más adecuado para la preparación del inóculo.

- Se utilizó la técnica de Kirby y Bauer para la prueba de efectividad antifúngica. (anexo 11)
- Se utilizó un hisopo para estriar por el borde del agar Sabouraud previamente se inoculó la superficie seca. (anexo 12).
- Luego se incubó en estufa.

Determinando el efecto antifúngico (anexo 13).

Se estableció mediante la difusión de discos de Kirby y Bauer, el cual consiste en preparar discos de papel de filtro estériles, los cuales fueron sumergidos dentro de cada concentración de *E. globulus*: 5, 25, 50%, 75% y 100%.

Concentración inhibitoria mínima:

Los tubos experimentales con 05 de extracto etanólico de *Eucalyptus globulus* al 5%, 25%, 50%, 75% y 100 a los cuales se les adicionó la 05 de la solución preparada de *C. albicans*. Los controles estuvieron constituidos por:

- a) *Candida albicans* y fluconazol
- b) *Candida albicans* sin ningún tratamiento

Todos los tubos se incubaron a 37°C por 24 horas. Los resultados se observaron mediante la turbidez. Colocándose los resultados mediante cruces. (Una + ligera turbidez, ++ turbidez media y +++ alta turbidez). (Anexo 14)

2.5 ANALIZANDO DATOS:

Informáticamente se realizó en un equipo de cómputo de marca LENOVO, con procesador Intel® CORE™ I3-2350M CPU @2.30 GHz, Edición de Windows 8.1 Pro @2013 Microsoft Corporation.

Se utilizó el paquete estadístico **SPSS** (Statistical Package for the Social Science) V 24.0 -13 de junio 2016.

□□**Estadística analítica:** Para determinar el efecto in vitro del extracto etanólico de *Eucalyptus globulus* sobre *Candida*, se aplicó estadística descriptiva a base de media y desviación estándar. Además se calculó la prueba t de diferencia de medias tomando en consideración el valor p obtenido, el cual se consideró significativo si se detectó menor a 0.05.

2.6 Aspectos éticos:

El estudio presentó la autorización de nuestra casa de estudios además las recomendaciones establecidas en la declaración de Helsinki, adoptada por la 18° Asamblea Médica Mundial en Helsinki. (40)

3.- RESULTADOS

Tabla N°1 La CMI fue al cinco %, ya que no se observó turbidez lo mismo ocurrido con todas las demás concentraciones del extracto utilizadas, tampoco se observó turbidez en el control de *Candida albicans* con fluconazol, en cambio se encontró alta turbidez en los tubos de *Candida albicans* sin tratamiento, la turbidez indica crecimiento de dicho microorganismo.

Tabla N°2 No se halló unidades formadoras de colonias en ninguna de las concentraciones, pero si se observaron UFC en el control de *Candida albicans* sin tratamiento 10^5 UFC/levaduras por mL.; estadísticamente la prueba t entre el extracto y el control de *Candida albicans* con fluconazol mostró un valor p de 0.63 lo que indicaría que no hay diferencia significativa entre el extracto y el grupo control mencionado.

Tabla N°3 Según los resultados, las concentraciones del extracto etanólico correspondientes a 5%, 25% 50% y 75% estadísticamente fueron inferiores a $p < 0.05$, es decir si hubo diferencia estadística frente al grupo control con fluconazol. Sólo la concentración al 100% mostró un valor $p > 0.05$, es decir no hubo diferencia estadística al compararse con el grupo control de fluconazol.

TABLA N°1:

N° DE TUBO	TURBIDEZ	EFICACIA					GRUPOS DE CONTROL	
		GRUPO EXPERIMENTAL					C. albicans	C. albicans
		(EXTRACTO ETANÓLICO)					CON	SIN TRATAMIENTO
		5%	25%	50%	75%	100%	FLUCONAZOL (2mg/mL)	
		CMI					CMI	CMI
1	-	-	-	-	-	-	+++	
2	-	-	-	-	-	-	+++	
3	-	-	-	-	-	-	+++	
4	-	-	-	-	-	-	+++	
5	-	-	-	-	-	-	+++	
6	-	-	-	-	-	-	+++	
7	-	-	-	-	-	-	+++	
8	-	-	-	-	-	-	+++	
9	-	-	-	-	-	-	+++	
10	-	-	-	-	-	-	+++	

CMI= CONCENTRACIÓN MINIMA INHIBITORIA

TABLA N°2:

N° DE PLACA	EFICACIA					GRUPO CONTROL (FLUCONAZOL) † (2mg/mL) UFC‡
	GRUPO EXPERIMENTAL (EXTRACTO ETANÓLICO) *					
	5%	25%	50%	75%	100%	
1	0	0	0	0	0	8
2	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	6
4	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0	0
7	0	0	0	0	0	0
8	0	0	0	0	0	0
9	0	0	0	0	0	0
10	0	0	0	0	0	0

*Prueba $t=0.000$; $p=1.000$
* † Prueba $t=0.662$; $p=0.63$
‡ Unidad formadora de colonias/ml.

Fuente: Resultados de laboratorio obtenidos por observación sistemática para el extracto etanólico de *Eucalyptus globulus* y grupo control, 2018.

TABLA N°3:

SUSCEPTIBILIDAD de *Candida albicans* FRENTE AL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Eucalyptus globulus*, MEDIANTE LA TÉCNICA DE KIRBY-BAUER

N° DE PLACA	SUSCEPTIBILIDAD					LONGITUD DEL HALO * (mm)	
	GRUPO EXPERIMENTAL (EXTRACTO ETANÓLICO)						GRUPO CONTROL (FLUCONAZOL 2mg/mL)
	5% †	25%‡	50%'	75%''	100%'''		
1	6	10	14	13	16	16	
2	6	10	12	13	20	20	
3	6	13	10	13	18	16	
4	6	13	13	13	20	20	
5	6	13	11	15	20	22	
6	6	13	11	15	20	23	
7	6	10	13	12	18	20	
8	6	10	19	15	17	20	
9	6	10	14	15	14	20	
10	6	10	14	15	11	22	

* En milímetros. †p= 0.000 ‡p= 0.000 'p= 0.0000 ''p= 0.000 '''p= 0.052
 Rango del grupo experimental: 6-20
 Rango del grupo control: 16-23

Fuente: Resultados de laboratorio obtenidos por observación sistemática para el extracto etanólico de *Eucalyptus globulus* y grupo control, 2018.

4. DISCUSIÓN

El agente patógeno que constituyó el motivo del experimento se reconoce en la literatura médica como causa principal de infecciones por hongos, además de reportar un incremento constante de infecciones a nivel mundial (3). Si bien es cierto las infecciones que produce pueden tratarse médicamente con antifúngicos tanto tópicos como sistémicamente, se reporta una pérdida de la eficacia de estos fármacos (8), lo que llevó a considerar al *Eucalyptus globulus* como alternativa, tomando en consideración que Gonza y cols. mencionan sus propiedades benéficas en la salud del ser humano (20). Cabe precisar también que, para el experimento fue necesario comprobar la eficacia de la planta en forma de extracto etanólico frente a un antifúngico de aplicación común como lo es el fluconazol, además de evaluar dicha eficacia según distintas concentraciones del extracto preparadas en laboratorio.

El procedimiento experimental se completó sin registrar pérdida de placas, por lo que las 60 consideradas inicialmente en el estudio fueron analizadas e incluidas en la investigación. Como ya se ha mencionado 10 de ellas constituyeron el grupo control que recibieron fluconazol. La recolección de los datos por medio de la observación sistemática fue realizada sin aplicación de alguna técnica de enmascaramiento, ya que el mismo profesional que se encargó de la aplicación de procedimientos fue el responsable de su lectura y registro por limitación de recursos para llevar a cabo el trabajo. Así mismo no se consideró un conjunto de placas con placebo por la misma razón. El resultado obtenido refleja apropiadamente lo observado en las placas estudiadas, aunque por el tamaño y la ausencia de un grupo testigo debemos reconocer limitación de los resultados obtenidos. Aun así, al tomar en cuenta un grupo de placas que recibieron fluconazol, los resultados pueden marcar el inicio de investigaciones más completas que confirmen nuestros hallazgos.

Dentro de nuestros hallazgos se estableció la eficacia inhibitoria según concentración. Si bien es cierto nuestro primer objetivo era determinar la concentración mínima inhibitoria del extracto en estudio, no fue necesario

presentar un resultado estadístico sobre esto debido a que, independientemente de la concentración, la observación sistemática arrojó que en ninguna se identificó turbidez. Es así que presentamos la primera tabla para responder al primer objetivo directamente mientras que para responder estadísticamente al segundo objetivo presentamos la segunda tabla, el cual mostró la comparación del extracto etanólico según diferentes concentraciones frente al grupo control, es decir, el que recibió fluconazol. Es así que las comparaciones se hicieron de dos formas, la primera para establecer que, por deducción lógica, no había diferencia en las UFC con dichas concentraciones por ser de cero unidades en todos los casos y, la segunda, comparando el promedio identificado en el extracto frente al promedio obtenido por fluconazol, que tampoco mostró diferencia estadística significativa, lo que nos permitió considerar que la eficacia de la planta en estudio fue similar al fármaco.

En la tabla N°3 se estableció la susceptibilidad de *Candida albicans* al extracto etanólico de *Eucalyptus globulus* con la técnica mencionada en los procedimientos. Para ello necesitamos medir los diámetros de los halos de inhibición en milímetros. Así se pudo observar que, en el caso del grupo experimental del extracto se logró identificar diámetros del halo entre 6 a 20 mm., mientras que para el caso del grupo control con fluconazol el rango comprendió de 16 a 23 mm. Estos resultados pueden compararse con la investigación de Alzamora y cols. (34) quienes encontraron una zona de inhibición de 14 mm. Si bien el rango del presente estudio, abarca un diámetro menor con la concentración al 5% del extracto etanólico de *Eucalyptus globulus*, el valor máximo supera lo observado por dicho investigador. El resultado puede compararse de manera individual ya que, dependiendo de la concentración, los diámetros del halo se incrementaron. Dicha investigación coincide con lo que observamos ya que se confirma susceptibilidad al extracto. El resultado guarda similitud también con lo reportado por Martins y cols. (36). De manera general, al sumar todas las concentraciones del extracto se apreció un promedio general de 12.32 mm lo que indica sensibilidad de *Candida albicans* al extracto etanólico de *Eucalyptus globulus*, mientras que para fluconazol fue de 19.9 mm. Para conocer si las diferentes concentraciones de la planta investigada mostraban diferencia estadística con el fluconazol se determinó por diferencia de medias un

valor p el cual fue significativo en concentraciones del 5 al 75%, lo cual sugirió superioridad del fluconazol. Sin embargo, al compararse con la concentración al 100%, no hubo diferencia con el fármaco, lo cual permite considerar que la susceptibilidad es similar en ambos.

Nuestra investigación no incluyó variables adicionales, se tomaron en cuenta criterios de selección y se mostró rigurosidad en los procedimientos del experimento, no se identificaron variables intervinientes que pudieran afectar el resultado.

Nuestro trabajo cumplió con los objetivos propuestos y consideramos que el resultado es relevante además sugerir la ejecución de investigaciones más amplias con un grupo testigo adicional además de enfocarse en una concentración del extracto al 100%.

Dentro de las limitaciones se ha mencionado previamente que no utilizamos un placebo y la comparación fue directa con el grupo que recibió fluconazol. Sin embargo, el procedimiento se llevó a cabo con todas las recomendaciones técnicas, mismas que fueron realizadas por un profesional del área de laboratorio.

5. CONCLUSIONES

1. Cada una de las concentraciones del extracto etanólico de *Eucalyptus* mostraron eficacia inhibitoria frente a *Candida albicans*.
2. No se identificó diferencia estadística significativa de las concentraciones frente al fluconazol ($p=0.63$) en cuanto a las unidades formadoras de colonias.
3. No hubo diferencia en la susceptibilidad de *Candida albicans* en contacto con el extracto etanólico de *Eucalyptus globulus* al 100% con respecto al fluconazol.

6. SUGERENCIAS

1. Se sugiere tomar en consideración los resultados obtenidos para favorecer estudios más amplios tomando en consideración la concentración al 100% de la planta.
2. Debería considerarse la investigación animal, en el caso de obtener resultados positivos con estudio más amplios.

7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. M. C. Pineda J. et al Candidosis vaginal. primera parte: revisión de la clínica, epidemiología y situación de México. Rev. Méd. Risaralda 2015; 21 (1): 58-63
2. Eduardo J. Muñoz Ganoza Aislamiento de Candida albicans de mujeres con candidiasis vaginal atendidas en el Hospital Regional Docente de Trujillo-Perú, 2012. Revista Científica de la Facultad de Ciencias Biológicas Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo. Perú. Vol 32, N° 1, Enero-Junio, 2012, pp. 44-103
3. Tejas R, Padalia H, Chanda S. The potential of plant extracts against multidrug resistant Candida species- A review. The Battle Against Microbial Pathogens: Basic Science, Technological Advances and Educational Programs (A. Mendez-Vilas, Ed.) 2015: 246-255
4. M. C. Javier Pineda-Murillo Candidosis vaginal. primera parte: revisión de la clínica, epidemiología y situación de México. Rev. Méd. Risaralda 2015; 21 (1): 58-63
5. Lee JE, Oh JH, Ku M, Kim J, Lee JS, Kang SO. Ssn6 has dual roles in Candida albicans filament development through the interaction with Rpd31. FEBS Lett. 2015 Feb 13;589(4):513-20. doi: 10.1016/j.febslet.2015.01.011.
6. Lu Y, Su C, Liu H. Candida albicans hyphal initiation and elongation. Trends Microbiol. 2014;22(12):707-714. doi:10.1016/j.tim.2014.09.001.
7. Tsai PW, Chien CY, Yeh YC, Tung L, Chen HF, Chang TH, et al. Candida albicans Hom6 is a homoserine dehydrogenase involved in protein synthesis and cell adhesion. J Microbiol Immunol Infect. 2016 Mar 31. pii: S1684-1182(16)30022-6. doi: 10.1016/j.jmii.2016.03.001.
8. López K. , Lugo C. , Arias J. , Zavala J. Mecanismos de resistencia antifúngica de los azoles en Candida albicans. Una revisión Rev Biomed 2016; 27:127-136
9. Dezsi Ş, Bădărău A, Bischin C, Vodnar D, Silaghi-Dumitrescu R, Gheldiu A et al. Antimicrobial and Antioxidant Activities and Phenolic Profile of

- Eucalyptus globulus* Labill. and *Corymbia ficifolia* (F. Muell.) K.D. Hill & L.A.S. Johnson Leaves. *Molecules*. 2015;20(12):4720-4734.
10. Vieira M, Bessa L, Martins M, Arantes S, Teixeira A, Mendes Â et al. Chemical Composition, Antibacterial, Antibiofilm and Synergistic Properties of Essential Oils from *Eucalyptus globulus* Labill. and Seven Mediterranean Aromatic Plants. *Chemistry & Biodiversity*. 2017;;e1700006
 11. Gonzales M, Ramirez D.: Antecedentes y situación reguladora de la medicina herbaria en Cuba. *U.A. E. M.* 2013 – 45(3): 36 – 45
 12. Tshivhase V, Njinga R, Mathuthu M, Dlamini T. Transfer Rates of ²³⁸U and ²³²Th for *E. globulus*, *A. mearnsii*, *H. filipendula* and Hazardous Effects of the Usage of Medicinal Plants From Around Gold Mine Dump Environs. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2015;12(12):15782-15793.
 13. Maria I. Etno-farmacología en Iberoamérica, una alternativa a la globalización de las prácticas de cura. Instituto de Investigaciones Científicas Tropicales. Programa de Desarrollo Global. Estudios de Etno-Desarrollo en América Latina, África, Asia y Pacífico. Cuadernos Geográficos, 41 (2007-2), 61-95
 14. Organización mundial de la salud. Temas de salud. Medicina tradicional. 2009 OMS.
 15. Gabriela I. Yáñez A.1 y J. Ramiro Velasteguí S. Investigación De La Actividad Antimicrobiana Y Fitoquímica De Extractos De Plantas Medicinales Frente A Los Microorganismos Patógenos *Escherichia coli* y *Candida albicans*, 2012 (2)
 16. Zorzi G, Carvalho E, von Poser G, Teixeira H. On the use of nanotechnology-based strategies for association of complex matrices from plant extracts. *Revista Brasileira de Farmacognosia* 25 (2015) 426–436
 17. Oliveira L, Breton M, Bastolla F, Camargo S, Margis R, Frazzon J et al. Reference Genes for the Normalization of Gene Expression in *Eucalyptus* Species. *Plant and Cell Physiology*. 2011;53(2):405-422.
 18. Mena Zablach, Marina Lilian. “Estudio sobre las propiedades antifúngicas de aceite de *Eucalyptus globulus* (Eucalipto) en *Cándida albicans*”. El

- Salvador. Facultad de Química y Farmacia. Universidad de El Salvador. 2012. Páginas: 3,6,20,21,25 y 26.
19. Ben Hassine D, Abderrabba M, Yvon Y, Lebrihi A, Mathieu F, Couderc F et al. Chemical Composition and in Vitro Evaluation of the Antioxidant and Antimicrobial Activities of *Eucalyptus gillii* Essential Oil and Extracts. *Molecules*. 2012;17(12):9540-9558.
 20. Gonza K., López E. , Zavaleta C., Cruz J. y Mendoza W. Efecto biofungicida de *Trichoderma harzianum* y de extractos de *Eucalyptus globulus*, *Rosmarinus officinalis* y *Ricinus communis* sobre *Rhizoctonia solani*. *REBIOLEST. Revista Científica de Estudiantes* 1 (1): 43 - 48 Facultad de Ciencias Biológicas - Universidad Nacional de Trujillo - Enero-Junio, 2013
 21. López-Meneses A, Plascencia-Jatomea M, Lizardi-Mendoza J, Rosas-Burgos E, Luque-Alcaraz A, Cortez-Rocha M. Antifungal and antimycotoxigenic activity of essential oils from *Eucalyptus globulus*, *Thymus capitatus* and *Schinus molle*. 2017 (1)
 22. Tyagi A, Malik A. Liquid and vapour-phase antifungal activities of selected essential oils against *Candida albicans*: microscopic observations and chemical characterization of *Cymbopogon citratus*. 2017 (1).
 23. Agarwal V, Lal P, Pruthi V. Effect of Plant Oils on *Candida albicans*. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*. 2010;43(5):447-451.
 24. Moreno J, López G, Siche R. Modeling and optimization of extraction process of eucalyptus essential oil (*Eucalyptus globulus*). *Scientia agropecuaria*. 2010;Vol 1:147-154.
 25. Buckle J. Women's Health. *Clinical Aromatherapy*. 2015;:373-394.
 26. Barbosa L, Filomeno C, Teixeira R. Chemical Variability and Biological Activities of *Eucalyptus* spp. Essential Oils. *Molecules*. 2016;21(12):1671.
 27. Assessment report on *Eucalyptus globulus* Labill., *Eucalyptus polybractea* R.T. Baker and/or *Eucalyptus smithii* R.T. Baker, aetheroleum, Based on Article 16d(1) 25 March 2014
 28. Elansary H, Salem M, Ashmawy N, Yessoufou K, El-Settawy A. In vitro antibacterial, antifungal and antioxidant activities of *Eucalyptus* spp. leaf

- extracts related to phenolic composition. *Natural Product Research*. 2017; VOL. 31, NO. 24, 2927–2930:1-4.
29. Martins C, Natal-da-Luz T, Sousa JP, Gonçalves MJ, Salgueiro L, et al. (2013) Effects of Essential Oils from *Eucalyptus globulus* Leaves on Soil Organisms Involved in Leaf Degradation. *PLoS ONE* 8(4): e61233. doi:10.1371/journal.pone.0061233
30. Zhou L, Li F, Huang L, Yang Z, Yuan S, Bai L. Antifungal Activity of *Eucalyptus* Oil against Rice Blast Fungi and the Possible Mechanism of Gene Expression Pattern. *Molecules*. 2016;21(5):621.
31. Mohammad Bokaeian, Alireza Nakhaee, Bita Moodi and Hossein Ali Khazaei *Eucalyptus globulus* (*Eucalyptus*) Treatment of Candidiasis in Normal and Diabetic Rats 2013.
32. Mekonnen A, Yitayew B, Tesema A, Taddese S. In Vitro Antimicrobial Activity of Essential Oil of *Thymus schimperi*, *Matricaria chamomilla*, *Eucalyptus globulus*, and *Rosmarinus officinalis*. 2017.
33. Bey-Ould Si Said Z, Haddadi-Guemghar H, Boulekbache-Makhlouf L, Rigou P, Remini H, Adjaoud A et al. Essential oils composition, antibacterial and antioxidant activities of hydrodistilled extract of *Eucalyptus globulus* fruits. *Industrial Crops and Products*. 2016;89:167-175.
34. Alzamora L, Morales L, Armas L, Fernández G. Medicina Tradicional en el Perú: Actividad Antimicrobiana in vitro de los Aceites Esenciales Extraídos de Algunas Plantas Aromáticas. *Anales de la Facultad de Medicina*. 2014;62(2):156.
35. Damjanovic et al. Antimicrobial effect of essential oil isolated from *Eucalyptus globulus* Labill. from Montenegro. *Czech Journal of Food Sciences*, 2011, 29(3),: 277- 284.
36. Martins N, Ferreira I, Barros L, Carvalho A, Henriques M, Silva S. Plants used in folk medicine: The potential of their hydromethanolic extracts against *Candida* species. *Industrial Crops and Products*. 2015;66:62-67.
37. Rodríguez B. Eficacia antifúngica in vitro de *Uncaria tomentosa* frente a *Eucalyptus globulus* sobre *Cándida* sp. [Tesis] Universidad privada antenor Orrego;2016

38. Duraffourd C. Iapraz J. Cuaderno de Fitoterapia Clínica. Editorial Masson; Francia 1986.1° Ed.
39. Miranda M. Métodos de análisis de drogas y extractos. Universidad Nacional Ciudad de la Habana, Cuba. 2002.
40. Mazzanti M. Declaración de Helsinki. Revista colombiana de bioética. 2001; vol. 6, núm. 1

8. ANEXOS

ANEXO 1

RECOLECCIÓN DE HOJAS DE EUCALIPTO, OTUZCO, PROVINCIA
OTUZCO, REGIÓN LA LIBERTAD



ANEXO 2

TRANSPORTE DE LAS HOJAS AL LABORATORIO DE FARMACOGNOSIA
DE LA FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA DE LA UNIVERSIDAD
NACIONAL DE TRUJILLO



ANEXO 3

LAVADO DE LAS HOJAS CON AGUA DESTILADA, SEGUIDO DE
DESINFECCIÓN CON HIPOCLORITO DE SODIO AL 0.5 %



ANEXO 4

COLOCACIÓN DE LAS HOJAS SOBRE PAPEL KRAFT Y SOMETIMIENTO A SECADO A TEMPERATURA AMBIENTE POR 24 HORAS



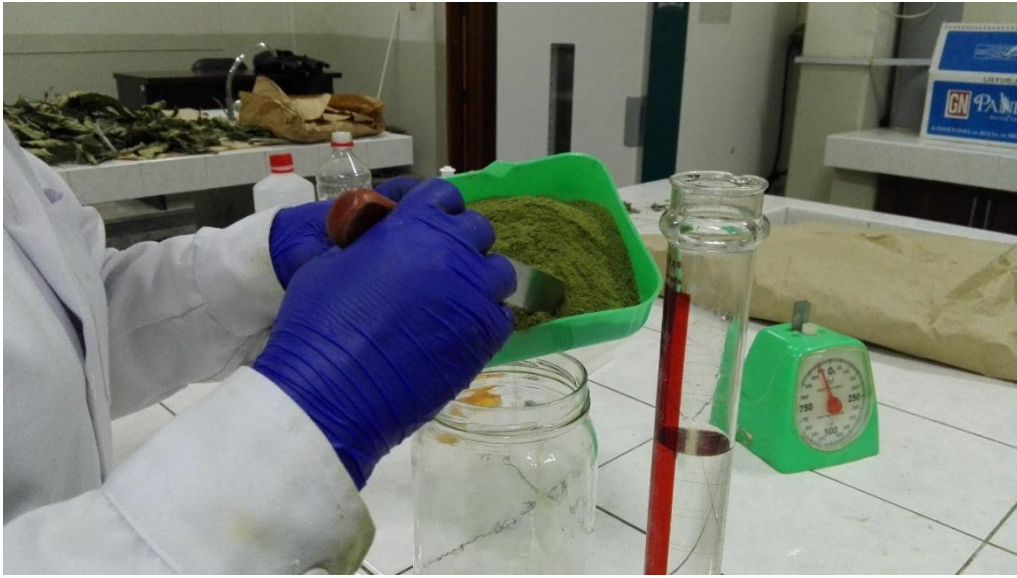
ANEXO 5

PULVERIZACIÓN DE LAS HOJAS CON MOLINO



ANEXO 6

PESAJE DE 300 GRAMOS DE POLVO DE LAS HOJAS DE EUCALIPTO,
PREVIAMENTE TAMIZADOS



ANEXO 7

COLOCACIÓN DEL POLVO DE LAS HOJAS EN FRASCOS DE VIDRIO Y
ADICIÓN DE ETANOL AL 70° G.L



ANEXO 8

TAPADO DE LOS FRASCOS Y MACERADO POR 7 DÍAS



ANEXO 9

FILTRACIÓN DEL MACERADO AL VACÍO CON PAPEL DE FILTRO WHATMAN N° 1.



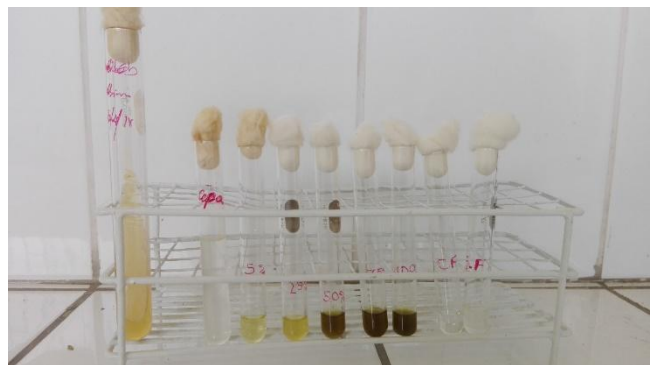
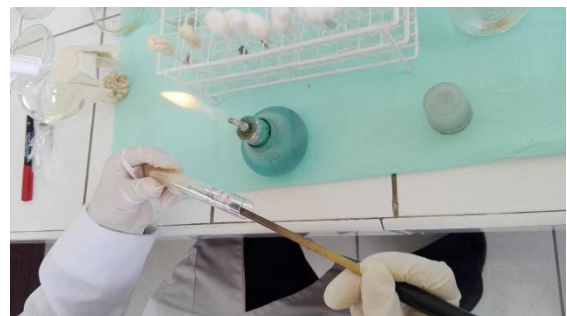
ANEXO 10

PREPARACIÓN DEL INÓCULO



ANEXO 11

PRUEBA DE EFECTIVIDAD ANTIFUNGICA: INOCULACIÓN DE LAS PLACAS



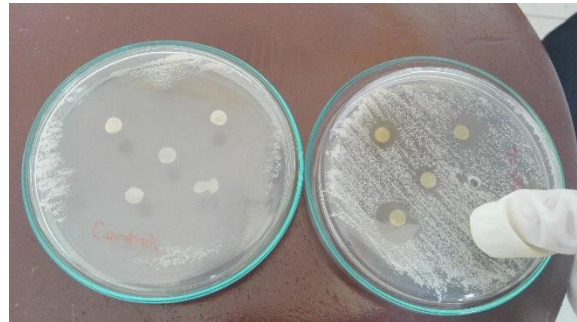
ANEXO 12

ESTRIADA EN CAMADA



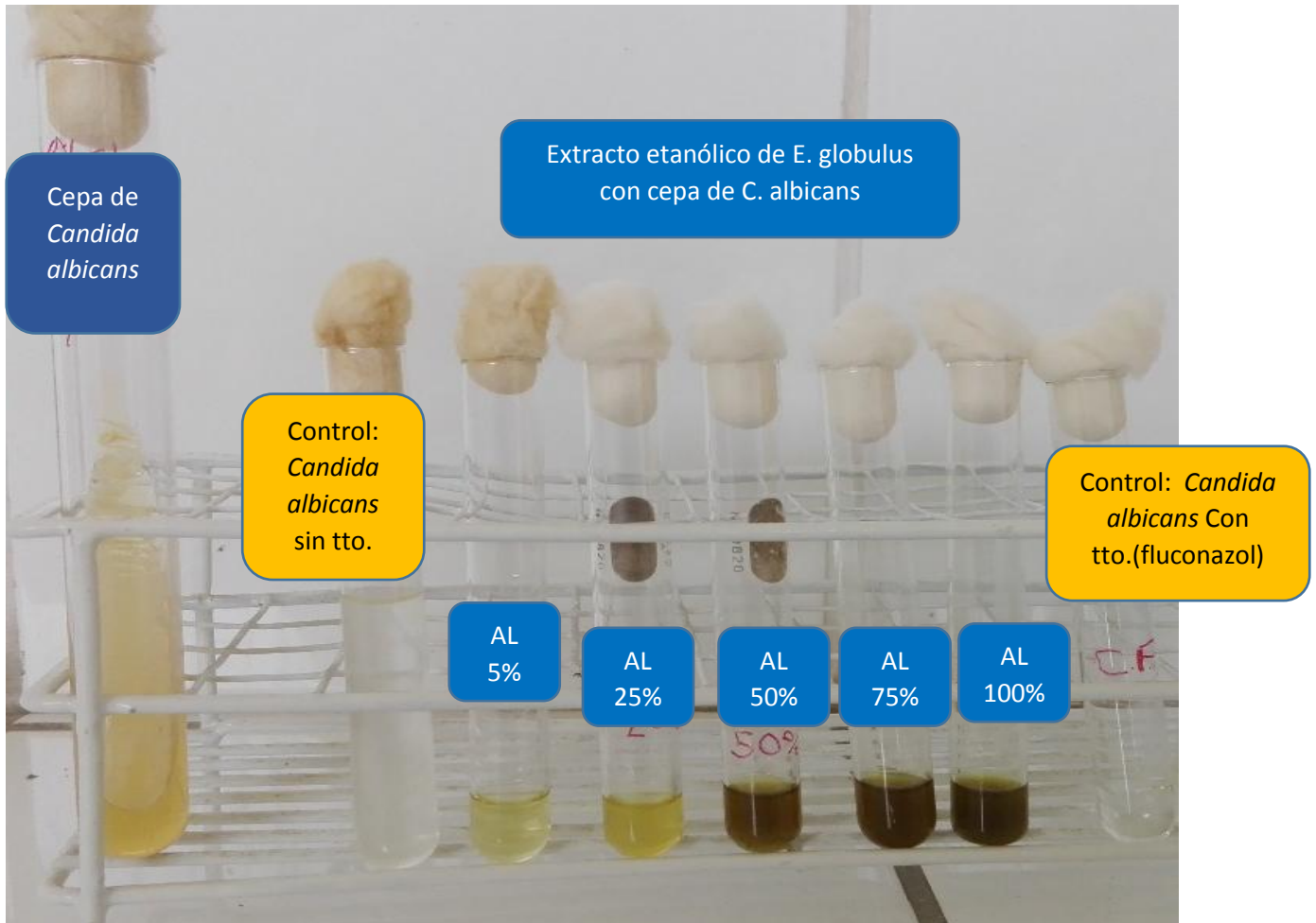
ANEXO 13

DETERMINACIÓN DEL EFECTO ANTIFÚNGICO



ANEXO 14

DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MINIMA INHIBITORIA



ANEXO 15

INSTRUMENTO DE RECOLECCION DE DATOS

Actividad anti fúngica de Eucalyptus globulus “eucalyptus” frente a Candida albicans según medición de halos de inhibición.

Longitud de Halo de inhibición (mm)	Suceptibilidad de <i>Candida albicans</i> frente a los extractos etanólico y control.					
	5%	25%	50%	75%	100%	CF
M1						
M2						
M3						
M4						
M5						
M6						
M7						
M8						
M9						
M10						


Actividad anti fúngica de Eucalyptus globulus “eucalyptus” frente a *Candida albicans* según unidad formadora de colonias.

UNIDAD FORMADORA DE COLONIAS por mL / MUESTRA	Efecto de los extractos etanólicos y controles en el crecimiento de <i>Candida</i>					
	5%	25%	50%	75%	100%	CF
M1						
M2						
M3						
M4						
M5						
M6						
M7						
M8						
M9						
M10						

Anexo 16


CONSTANCIA DE IDENTIFICACIÓN TAXONÓMICA DE

Eucalyptus globulus



Herbarium Truxillense (HUT)

Universidad Nacional de Trujillo
Facultad de Ciencias Biológicas
Jr. San Martín 392, Trujillo - Perú



Constancia N° 026 – 2018- HUT

EL DIRECTOR DEL HERBARIUM TRUXILLENSE (HUT) DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO.

Da Constancia de la determinación taxonómica de un (01) espécimen vegetal:


- Clase: Equisetopsida
- Subclase: Magnoliidae
- Superorden: Rosanae
- Orden: Myrtales
- Familia: Myrtaceae
- Género: Eucalyptus
- Especie: *E. globulus* Labill
- Nombre Vulgar: “eucalypto”


Muestra alcanzada a este despacho por YVÓN CHRISTINA SARAÍ MACEDO RAMÍREZ, identificado con DNI N° 72187086, con domicilio legal en la Av. Gran Chimú 1590-La Esperanza; estudiante de la Escuela Profesional de Medicina Humana, Facultad de Medicina Humana, Universidad Privada Antenor Orrego-Trujillo, cuya determinación taxonómica servirá para la realización del Proyecto de Tesis:

“Eficacia antifúngica del extracto etanólico de *Eucalyptus globulus* sobre *Candida albicans* in vitro”.

Se expide la presente Constancia a solicitud de la parte interesada para los fines que hubiera lugar.

Trujillo, 07 de mayo del 2018


Dr. JOSE MOSTACERO LEON
Director del Herbario HUT



cc. Herbario HUT