

UNIVERSIDAD PRIVADA ANTENOR ORREGO

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE OBSTETRICIA



Eficacia antifúngica in vitro de *Uncaria tomentosa* frente a *Eucalyptus globulus* sobre *Cándida* sp.

Tesis para optar al título profesional de Obstetra

ALUMNAS:

Bach. RODRIGUEZ GRADOS BETTY

Bach. SANTA MARIA PARRALES LOURDES

ASESORA:

Ms. C. KELLYN GOMEZ CASTRO

TRUJILLO- PERU

UNIVERSIDAD PRIVADA ANTENOR ORREGO

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE OBSTETRICIA



Eficacia antifúngica in vitro de *Uncaria tomentosa* frente a *Eucalyptus globulus* sobre *Cándida* sp.

Tesis para optar al título profesional de Obstetra

ALUMNAS:

Bach. RODRIGUEZ GRADOS BETTY

Bach. SANTA MARIA PARRALES LOURDES

ASESORA:

Ms. KELLYN GOMEZ CASTRO

TRUJILLO- PERU

PÁGINA DEL JURADO

PRESIDENTE(A)

SECRETARIO(A)

VOCAL

DEDICATORIA

A Dios por permitirme estar aquí culminando uno de mis grandes sueños, quien me ha dado la vida y la fortaleza para seguir adelante, porque me guías en las circunstancias adversas por su gran amor hacia mí y hacia los que me rodean.

A mis padres y hermanos, ejemplo de lucha y sabiduría, quienes me inculcaron grandes valores y me enseñaron que para ser felices no es importante tener riquezas sino estar unidos.

A mi novio Julio por impulsarme a lograr este sueño, por proveerme de todos los recursos para llevar a cabo mi meta, por su tiempo, comprensión, paciencia y sobre todo su amor.

Betty Rodríguez Grados

En primer lugar a Dios Todopoderoso y a la Virgen María quienes me mantienen con buena salud para poder llevar a cabo mis sueños; a mi padre Hermes, que está en el cielo, quien tuvo que partir a su encuentro con el Señor, pero que siempre me acompañó en espíritu y me dio fortaleza para perseverar en busca de mis anhelos; a mi madre Bertha, quien siempre me acompañó brindándome su amor de madre, indispensable para superar cada reto en mi vida; a mi esposo Luis, quien siempre supo acompañarme en las buenas y malas; a mi hijito Alessandrito, que es el motor y motivo de mi vida.

Lourdes Santa María Parrales

AGRADECIMIENTO

Gracias Dios por extender tu mano llena de bendiciones cada día, gracias por tu infinito amor que ilumina y guía nuestro camino y permitir que culminemos con éxito nuestras metas.

Deseamos expresar un agradecimiento especial a la **Ms.C. Kellyn Gómez Castro** por su infinita paciencia y ayuda para la realización de esta tesis, por sus consejos, por confiar en nosotras, pero sobre todo por su amistad quien además de transmitirnos su vocación investigadora, nos orientó, constante y directamente en todos los aspectos de la tesis durante estos años. Agradecerle la plena confianza que siempre nos ha demostrado, así como la dedicación y la atención que en todo momento nos ha ofrecido.

Para todos los miembros de la Escuela Profesional de Obstetricia, quienes nos han enseñado a ser mejores y realizarnos profesionalmente.

Y por supuesto el más profundo agradecimiento a nuestras familias, padres y hermanos por brindarnos su apoyo incondicional.

Las autoras

DECLARATORIA DE AUTENTICIDAD

Nosotras, RODRIGUEZ GRADOS BETTY identificada con DNI N° 70031266 y SANTA MARIA PARRALES LOURDES identificada con DNI 70616614, a efecto de cumplir con las disposiciones vigentes consideradas en el Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad Privada Antenor Orrego, Facultad de Ciencias de la Salud, Escuela Profesional de Obstetricia; con la tesis titulada “Eficacia antifúngica in vitro de *Uncaria tomentosa* frente a *Eucalyptus globulus* sobre *Cándida sp.*”.

Declaro bajo juramento que:

- 1) La tesis es de nuestra autoría.
- 2) Hemos respetado las normas internacionales de citas y referencias para las fuentes consultadas. Por tanto, la tesis no ha sido plagiada ni total ni parcialmente.
- 3) La tesis no ha sido plagiada; es decir, no ha sido publicada ni presentada anteriormente para obtener algún grado académico previo o título profesional.
- 4) Los datos presentados en los resultados son reales, no han sido falseados, ni duplicados, ni copiados y por tanto los resultados que se presenten en la tesis se constituirán en aportes a la realidad investigada. De identificarse la falta de fraude (datos falsos), plagio (información sin citar a autores), auto plagio (presentar como nuevo algún trabajo de investigación propio que ya ha sido publicado), piratería (uso ilegal de información ajena) o falsificación (representar falsamente las ideas de otros), asumo las consecuencias y sanciones que de mi acción se deriven, sometiéndome a la normatividad vigente de la Universidad Privada Antenor Orrego.

Trujillo, 12 de Noviembre, 2016

RODRIGUEZ GRADOS BETTY

DNI N° 70031266

SANTA MARIA PARRALES LOURDES

DNI 70616614

INDICE

I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. MATERIAL Y METODOS.....	7
2.1 Material	7
2.1.1 Material biológico.....	7
2.1.2 Material vegetal.....	7
2.1.3 Muestra.....	7
2.1.4 Criterios de Inclusión y Exclusión.....	8
2.2 Metodo.....	8
2.2.1 Tipo de Estudio.....	8
2.2.2 Procedimiento.....	9
2.2.3 Análisis estadístico.....	11
III. RESULTADOS.....	11
IV. DISCUSION.....	16
V. CONCLUSIONES.....	19
VI. RECOMENDACIONES.....	20
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	21
VIII. ANEXO.....	25

INDICE DE CUADROS

CUADRO N°1: Actividad antimicrobiana del extracto de *Uncaria tomentosa* “uña de gato” y *Eucalyptus globulus* “eucalipto” frente a *Cándida albicans* ATCC 10231, *Cándida albicans* y *Cándida* sp. según medición de halos de inhibición en mm.

Pg. 11

CUADRO N°2 Prueba t para igualdad de medias del extracto etanólico de *Eucalyptus globulus* “eucalipto” y *Uncaria tomentosa* “uña de gato” sobre el diámetro de halos de inhibición en *Cándida albicans* ATCC 10231, *Cándida albicans* y *Cándida* sp.

Pg. 15

INDICE DE FIGURAS

- Figura 01 Diámetro de los halos de inhibición del crecimiento de *Cándida albicans* ATCC 10231, frente a los extractos etanólicos de eucalipto y uña de gato. Pg.13
- Figura 02 Diámetro de los halos de inhibición del crecimiento de *Cándida albicans*, frente a los extractos etanólicos de eucalipto y uña de gato. Pg.14
- Figura 03 Diámetro de los halos de inhibición del crecimiento de *Cándida* sp., frente a los extractos etanólicos de eucalipto y uña de gato. Pg.15
- Fig. 04. Recolección de *Uncaria tomentosa*. Pg.27
- Fig. 05.: Recolección de *Eucalyptus globulus*. Pg.27
- Fig.06: Preparación de extracto de uña de gato. pg.28
- Fig.07.: preparación de extracto de eucalipto. Pg.28
- Fig. 08.: extractos etanólicos preparados en maceración Pg.28
- Fig. 09.: Cultivos de *Cándida* sp. proporcionadas por el Laboratorio de Microbiología del Hospital Regional Docente de Trujillo. Pg.29
- Fig. 10.: Cultivos de *Cándida albicans* proporcionadas por el Laboratorio de Microbiología del Hospital Regional Docente de Trujillo. Pg.29

- Fig. 11.: Cepa de *Cándida albicans* ATCC 10231 (American Type culture collection) proporcionada por el Laboratorio de Microbiología molecular y Biotecnología. Pg.29
- Fig. 12.: Prueba de difusión en disco. Pg.30
- Fig 13. Observación de halos de inhibición en *Cándida albicans*. Pg.31
- Fig 14 Observación de halos de inhibición en *Cándida albicans* ATCC 10231. Pg.31
- Fig 15. Observación de halos de inhibición en *Cándida* sp. Pg.31
- Fig 16. Observación de halos de inhibición en *Cándida* sp. Frente al fluconazol. Pg.32
- Fig 17. Observación de *en Cándida* sp. Frente a Twen 80. Pg.32

RESUMEN

En esta investigación de tipo experimental se estudió la actividad antifúngica in vitro de *Uncaria tomentosa* (uña de gato) y *Eucalyptus globulus* (eucalipto) sobre *Cándida* sp. Se preparó extractos etanólicos y se reactivaron los cultivos de *Cándida albicans* ATCC 10231, *Cándida albicans* y *Cándida* sp., los extractos y cultivos fueron enfrentados mediante la prueba de difusión en disco, y como resultado se encontraron halos de inhibición de crecimiento que evidenciaron el antagonismo producido. El análisis estadístico determinó que no hay diferencias significativas ($p>0.05$) entre los extractos etanólicos de eucalipto y uña de gato sobre *Cándida* sp., por lo que se concluye que el extracto etanólico de *Uncaria tomentosa* (uña de gato) y *Eucalyptus globulus* (eucalipto) tienen actividad antifúngica, sobre *Cándida* sp. Pero no hay diferencias significativas entre la actividad que realizan.

PALABRAS CLAVE: *Uncaria tomentosa*; *Eucalyptus globulus*; *Cándida*; extractos etanólicos.

ABSTRACT

In this experimental research antifungal activity in vitro of *Uncaria tomentosa* (cat's claw) and *Eucalyptus globulus* (eucalyptus) on *Candida* sp it was studied. ethanolic extracts were prepared and cultures of *Candida albicans* ATCC 10231, *Candida albicans* and *Candida* sp. were reactivated., extracts and crops were confronted by testing disk diffusion, and as a result halos of inhibition of growth that showed found antagonism produced. Statistical analysis found no significant differences ($p > 0.05$) between the ethanolic extracts eucalyptus and cat's claw on *Candida* sp., So it is concluded that the ethanol extract of *Uncaria tomentosa* (cat's claw) and *Eucalyptus globulus* (eucalyptus) have antifungal activity against *Candida* sp. but there is no significant difference between the activity carried out.

KEY WORDS: *Uncaria tomentosa*; *Eucalyptus globulus*; *Candida*; ethanolic extracts.

I. INTRODUCCIÓN

El género *Cándida* pertenece a la clase Blastomycetes, orden Moniliales, son levaduras anacosporadas, cuyo estado anamorfo pertenece a la subdivisión Deuteromycotina, son mitospóricas alargadas o ligeramente redondas y se reproducen por gemación. Se han descrito más de 190 especies, siendo la más importante *Cándida albicans*, que vive de forma normal y exclusiva en el tubo digestivo y responsable, en un porcentaje elevado, de las candidiasis superficiales y sistémicas. Otras especies menos frecuentes han sido descritas en diversos cuadros clínicos: *C. parakrusei* (cuadros cutáneos y viscerales); *C. tropicalis* (digestivos, vaginales, broncopulmonares, viscerales); *C. krusei* (vaginales); *C. parapsilosis*; *C. glabrata* y *C. lusitanae*, entre otras^{2,3,4}.

La *cándida* es un hongo oportunista, llegando a causar enfermedad en el huésped, cuando existe alteración de su estado inmunológico (VIH, desnutrición, etc.), por un cambio fisiológico de su flora normal, cambios en el metabolismo de los carbohidratos y por enfermedad ocupacional (panaderos, empacadores de frutas), etc^{5,6}.

La *cándida* se encuentra actualmente como parte de la flora normal en la piel, el tracto digestivo y de la membrana mucosa, incluyendo el tracto genito-urinario humano, la infección por *Cándida* se llama candidiasis y se puede desarrollar en áreas tales como piel, boca, esófago, vías urinarias y pene; la forma más común de candidiasis es la infección vaginal, llamada candidiasis vaginal^{7,5}.

La candidiasis vaginal es considerada, es la segunda causa más frecuente del síndrome de flujo vaginal en la mujer^{8,9}, sus síntomas varían entre una secreción blanca ligeramente acuosa a un flujo blanco espeso y abundante, ardor y prurito en los labios y en la vagina, relaciones sexuales dolorosas, micción dolorosa, enrojecimiento e inflamación de la piel justo por fuera de la vagina (vulva)^{10,11}.

La colonización vaginal por *Cándida* es relativamente frecuente entre mujeres atendidas en clínicas de infecciones de transmisión sexual (ITS), presentando muchas de ellas extensión a la zona ano-rectal. Las moniliasis, candidosis o candidiasis son infecciones cutáneas, mucosas o sistémicas producidas por hongos o levaduras de la especie *Cándida*^{12,13}. Entre otros cuadros, provocan vulvovaginitis, que pueden no ser transmitidas por contacto sexual; es causada por un sobrecrecimiento de las levaduras *Cándida albicans* es la que se presenta en el 70%-90% de los casos; especies no *albicans* como *Cándida glabrata* representan el resto de la infección^{12,13}.

En cuanto al tratamiento médico se refiere, existe un amplio número de agentes antifúngicos siendo los Imidazoles los más utilizados. Algunas especies de *Cándida* han adquirido resistencia a los fármacos antimicóticos, tales como *C. krusei* quien presenta resistencia al ketoconazol, *C. dubliniensis*, con un fenotipo estrechamente relacionado con *C. albicans* ha adquirido resistencia al fluconazol, entre otras^{14,15}.

Durante las últimas décadas la utilización de la medicina tradicional y complementaria se ha extendido en el mundo y han ganado una gran popularidad, sin embargo, muy pocas especies de plantas y productos que se originan de ellos se han estudiado con fines médicos y un número menor cuenta con estudios realizados sobre su seguridad eficacia y calidad ^{16,17}. El Perú cuenta con una gran diversidad de plantas como la *Uncaria tomentosa*, utilizada durante siglos por la civilización indígena de la selva peruana como una alternativa de tratamiento para diferentes enfermedades¹⁸.

La *Uncaria tomentosa* comúnmente conocida como uña de gato, crece en tierras vírgenes de la selva peruana, es una planta perteneciente a la familia Rubiaceae, es un gran arbusto trepador que sube a los árboles aledaños a su nacimiento formando enredaderas que alcanzan hasta veinte metros de altura. Las ramas jóvenes son cuadrangulares y los tallos poseen unas espinas ganchudas y leñosas, estas espinas son las que dan origen a su nombre común de uña de gato, las hojas son pecioladas, opuestas, de forma oblonga u oblonga aovada y de color verde amarillento, opaco en el haz y verde pálido en el envés, con finos vellos característicos del término “tomentosa”. Las inflorescencias poseen hasta cinco cabezuelas esféricas, pedunculadas, solitarias o a veces racemosas¹⁹.

Uncaria tomentosa (uña de gato) en su corteza contiene alcaloides, heterósidos del ácido quinóvico, triterpenos, esteroleos y compuestos fenólicos, posee propiedades antiinflamatorias e inmunoestimulantes. La acción antiinflamatoria se ha relacionado con la facultad de la uña de gato para proteger contra el estrés oxidativo y a su capacidad para inhibir la expresión de determinados genes inducibles asociados con

el proceso inflamatorio. El efecto inmunoestimulante se atribuye al contenido de alcaloides oxindolpentacíclicos, la uña de gato carece de toxicidad a dosis terapéuticas²⁰.

El eucalipto pertenece a la familia Myrtaceae es generalmente recto, aunque su tronco puede presentar desviaciones elipsoidales. Pueden llegar a medir más de a 90m. de longitud, las hojas son ovaladas, de un color verde azulado oscuro cuando son adultas; el aceite esencial obtenido de sus hojas tiene un olor agradable y puede actuar como un efectivo desinfectante natural. En aromaterapia se ha utilizado para poner en práctica sesiones de relajamiento, presenta flores blancas y al abrirse, libera afluencia de estambres de color amarillo claro, los frutos son pequeñas cápsulas que albergan gran cantidad de semillas .La composición química que presenta la planta es muy diversa teniendo como componente principal el cineol o eucaliptol, el mismo que le da la acción bactericida, encontramos también: terpineol, carburos terpénicos, alcoholes alifáticos, aldehídos y cetonas, posee también una moderada cantidad de componentes detoxificante que facilita la eliminación de sustancias toxicas dentro del organismo como el denominado tanino, al igual que pigmentos, un heterópsido fenólico complejo, resina y un principio amargo, característico del denominado tanino²¹.

Costa y col. (2008), realizó un estudio de la evaluación y clínica de gel de *Uncaria tomentosa* “uña de gato” en candidiasis oral, teniendo como muestra a 20 personas con candidiasis oral, se llegó a la conclusión que el gel de *Uncaria*

tomentosa “uña de gato” tiene acción antifúngica y antiinflamatoria, teniendo eficacia superior al miconazol²².

Estudiar la actividad antifúngica de plantas medicinales es muy importante para la carrera de obstetricia ya que en nuestra práctica clínica rural durante los años de estudio de pregrado, nos hemos dado cuenta que eran utilizados por gran parte de la población, quienes utilizan plantas medicinales en lugar de acudir al centro de salud para recibir un fármaco, esto tal vez ocurre porque para ellos les es más accesible económicamente adquirir los elementos naturales sin importarles si su efecto ha sido comprobado o no, o si tiene algunos efectos secundarios o adversos. Por otro lado, hay muchos microorganismos como los hongos que han desarrollado múltiples resistencias a medicamentos existentes en el mercado farmacéutico, y es por esta razón que, decidimos evaluar, por medio de un estudio in vitro la eficacia de *Uncaria tomentosa* (uña de gato) y *Eucalyptus globulus* (eucalipto), que son muy conocidas por la población de nuestra localidad sobre *Cándida* sp. que es uno de los principales agentes etiológicos de enfermedades, principalmente de la población femenina.

OBJETIVOS

A) Objetivo general

- Determinar la eficacia antifúngica in vitro del extracto etanólico de *Uncaria tomentosa* comparado con el extracto etanólico de *Eucalyptus globulus* sobre *Cándida* sp.

B) Objetivos específicos

- Determinar el efecto antifúngico in vitro, del extracto etanólico de *Uncaria tomentosa* sobre *Cándida* sp.
- Determinar el efecto antifúngico in vitro, del extracto etanólico de *Eucalyptus globulus* sobre *Cándida* sp.
- Comparar el efecto antifúngico, del extracto etanólico de *Uncaria tomentosa* frente al extracto etanólico de *Eucalyptus globulus* sobre *Cándida* sp.

HIPOTESIS:

H0: El extracto etanólico de *Uncaria tomentosa* tiene mayor eficacia antifúngica in vitro frente al extracto etanólico de *Eucalyptus globulus* sobre *Cándida* sp.

H1: El extracto etanólico de *Eucalyptus globulus* tiene mayor eficacia antifúngica in vitro frente al extracto etanólico de *Uncaria tomentosa* sobre *Cándida* sp.

II. MATERIALES Y METODOS

2.1 MATERIAL

2.1.1 MATERIAL BIOLÓGICO:

Material Vegetal

Tallos de *Uncaria tomentosa* (uña de gato), adquiridos en la ciudad de Pucallpa por el Instituto Nacional de Innovación Agraria. Extraído de Anexo: Von Humboldt Km 86.

Hojas de *Eucalyptus globulus* (eucalipto), las cuales fueron adquiridas en el distrito de Uningambal, Provincia de Santiago de Chuco en el Departamento de la Libertad, e identificada por el Museo de Historia Natural de la Universidad Privada Antenor Orrego.

2.1.2 Muestra

- Cepa de *Cándida albicans* ATCC 10231 (American type culture collection) proporcionada por el Laboratorio de Microbiología molecular y Biotecnología de la Universidad Privada Antenor Orrego.
- Cultivos de *Cándida* sp. y *Candida albicans*, proporcionadas por el Laboratorio de Microbiología del Hospital Regional Docente de Trujillo.

2.1.3 CRITERIOS DE INCLUSION Y EXCLUSION:

CRITERIOS DE INCLUSIÓN:

- Cultivo puro de *Cándida* sp.
- Extracto etanólico de *Uncaria tomentosa* y extracto etanólico de *Eucalyptus globulus* (eucalipto)

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN:

- Cultivos contaminados de *Cándida* sp.
- Extracto contaminado de *Uncaria tomentosa* (uña de gato) y de *Eucalyptus globulus* (eucalipto)
- Contaminación exógena del laboratorio.

2.2 MÉTODO:

2.2.1 Tipo de Estudio:

- Según su finalidad: Investigación básica
- Según su carácter: Experimental observacional.
- Según su naturaleza: Cualitativa.
- Según la orientación que asume: Explicativo experimental.
- Según su Diseño: Salomón
- Según su escala de medición: Nominal a dosis creciente.

2.2.2 Procedimiento

A. Preparación de extractos etanólico

- Se identificó la planta de *Uncaria tomentosa* (uña de gato) y *Eucalyptus globulus* (eucalipto), según sus características taxonómicas (ANEXO N°1), se secó a temperatura ambiente y se pulverizo utilizando un mortero.
- Se pesaron 50 gramos de *Uncaria tomentosa* (uña de gato) y 50 gramos de *Eucalyptus globulus* (eucalipto).
- En recipientes separados, se agregó 200ml de etanol a 96° y se dejó en maceración, al cuarto día se agregó 100ml más de etanol a 96% y se dejó reposar cuatro días más. Se obtuvieron ambos extractos etanólicos a una concentración de 0.1%
- Se filtró tres veces y se sometió a un Rotador por Vapor para separar del solvente, luego se dejó que se evapore a temperatura ambiente.
- Se resuspendió en solución Tween 80 al 0.1%

B. Reactivación de cultivos de *Cándida* sp.

- Se sembraron las muestras obtenidas de *Cándida albicans* ATCC 10231 (American Type Culture Collection 10231), *Candida albicans* y *Cándida* sp en agar Sabouroud por la técnica de siembra en superficie y se procedió a incubar a 37°C por 24 horas.
- Se realizó la observación microscópica de un preparado en fresco de *Cándida* sp. y se observó la formación del tubo germinal.
- Se procedió a resembrar en 5 ml de caldo glucosado y se dejó 24 horas en agitación a $36 \pm 2^\circ\text{C}$.

C. Prueba antagónica: Difusión en disco o Kirby bauer

- A partir de un cultivo puro de *Cándida albicans* ATCC 10231 (American Type Culture Collection), *Candida albicans* y *Cándida* sp suspendidos en caldo glucosado, se llevó a una concentración equivalente al tubo 0.5 del Nefelómetro de Mac Farland ($1,5 \times 10^8$ ufc/ml) utilizando el espectrofotómetro.
- Se dejaron reposar 15 minutos y se sembró en Agar Sabouroud cada cultivo, embebiendo un hisopo estéril de algodón en la suspensión anteriormente obtenida.
- Se colocó discos de papel de filtro estériles (no más de 4), embebidos con cada uno de los extractos., los dos primeros discos como control con fluconazol y Twen 80, los restantes con el extracto de eucalipto y uña de gato.
- Se dejó reposar por 5 minutos y se procedió a incubar a 37°C por 24 horas.
- Se realizó la medición del diámetro del halo de inhibición en milímetros.

2.2.3 ANÁLISIS ESTADÍSTICO:

Para determinar si existe o no diferencia significativa entre utilización de extracto de *Uncaria tomentosa* y *Eucaliptus globulus* sobre *Cándida* sp., se utilizó una prueba t comparativa para dos muestras diferentes con un nivel de confianza del 95%

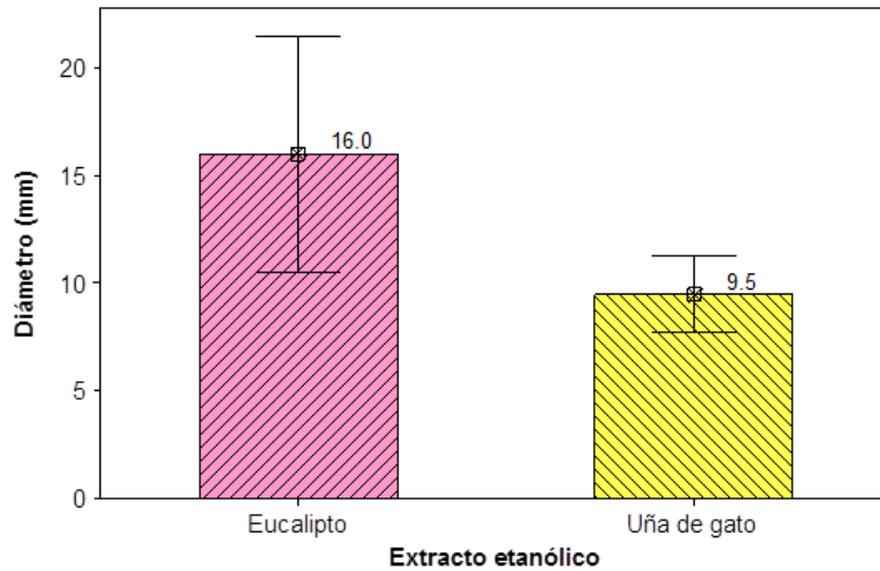
III. RESULTADOS:

CUADRO N°1: Actividad antifúngica del extracto de *Uncaria tomentosa* “uña de gato” y *Eucalyptus globulus* “Eucalyptus” frente a *Cándida albicans* ATCC 10231, *Cándida albicans* y *Cándida* sp., según medición de halos de inhibición en milímetros.

Vegetal	Extracto etanólico	Repeticiones	<i>Cándida albicans</i> ATCC 10231 (mm)	<i>Cándida albicans</i> (mm)	<i>Cándida</i> sp. (mm)
Uña de gato	1	1	6	15	5
Uña de gato	1	2	12	7.5	9
Uña de gato	1	3	10.5	4.5	8.5
Promedio	-	-	9.5	9	7.5
Eucalipto	2	1	10	7	10
Eucalipto	2	2	27	9	10
Eucalipto	2	3	11	11	7
Promedio	-	-	16	9	9

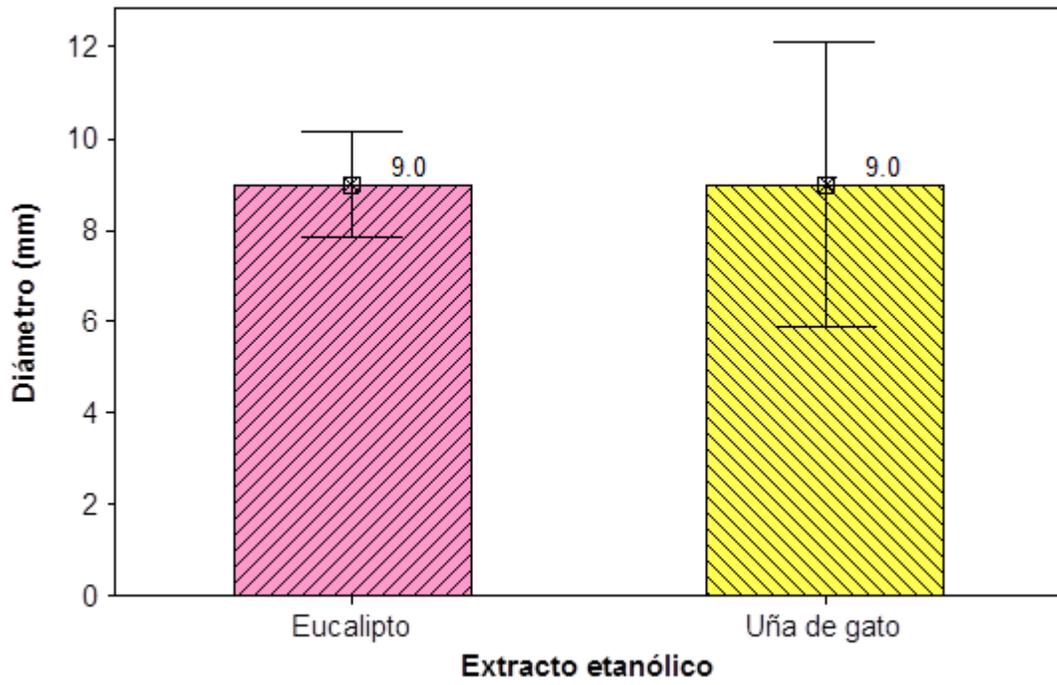
Fuente: Rodríguez Grados, Santa María Parrales

Figura N° 1 Diámetro de los halos de inhibición del crecimiento de *Cándida albicans* ATCC 10231, frente a los extractos etanólicos de eucalipto y uña de gato



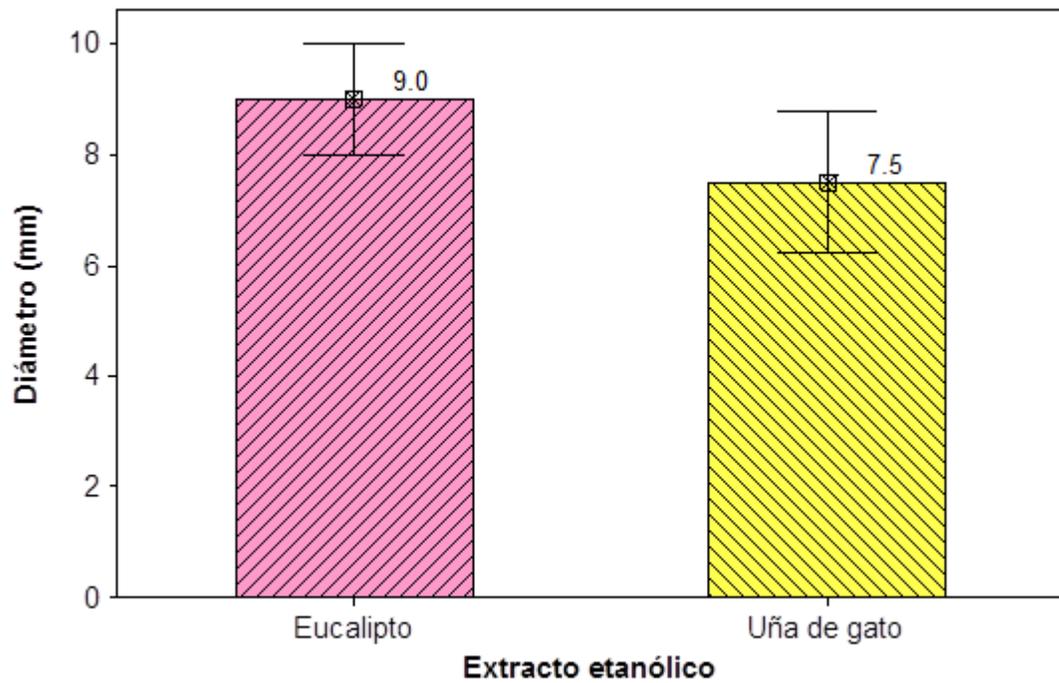
Se observa que con la aplicación del extracto etanólico de uña de gato el diámetro promedio del halo de inhibición fue menor (9.5 mm) a comparación con el extracto etanólico de eucalipto (16.0 mm).

Figura N°2, Diámetro de los halos de inhibición del crecimiento de *Cándida albicans*, frente a los extractos etanólicos de eucalipto y uña de gato.



Se observa que con la aplicación del extracto etanólico de uña de gato y eucalipto el diámetro promedio del halo fue el mismo de 9.0 mm para ambos casos.

Figura N°3 Diámetro de los halos de inhibición del crecimiento de *Cándida* sp., frente a los extractos etanólicos de eucalipto y uña de gato.



Se observa que con la aplicación del extracto etanólico de uña de gato el diámetro promedio del halo de inhibición fue menor (7.5 mm) a comparación del extracto etanólico de eucalipto (9.0 mm).

Cuadro N°2 Prueba t para igualdad de medias del extracto etanólico de eucalipto y uña de gato sobre el diámetro de halos de inhibición en *Cándida albicans* ATCC 10231, *Cándida albicans* y *Cándida* sp.

Microorganismo	Prueba de Levene de igualdad de varianzas		Prueba t para la igualdad de medias				
	F	p	t	Grados de libertad	p	95% de intervalo de confianza de la diferencia	
						Inferior	Superior
<i>Cándida albicans</i> ATCC 10231	6.294	0.066	-1.122	4	0.325	-22.5898	9.5898
<i>Candida albicans.</i>	3.241	0.146	0.000	4	1.000	-9.2432	9.2432
<i>Candida</i> sp.	0.364	0.579	-0.933	4	0.404	-5.9625	2.9625

p>0.05, no existe diferencia significativa

Fuente: Rodríguez Grados, Santa María Parrales

En el cuadro N° 2 se presenta la prueba t para igualdad de medias para grupos independientes, donde se comparó el efecto del extracto etanólico de eucalipto y uña de gato sobre el diámetro de halos de inhibición en *Cándida albicans* ATCC 10231, *Cándida albicans* y *Cándida* sp.

IV. DISCUSIÓN:

La candidiasis vulvovaginal (CVV) es la segunda causa de infección vaginal en la mujer en edad fértil, estimándose que 75% o más mujeres sufrirán un episodio a lo largo de la vida. El embarazo, la diabetes mellitus no controlada y el consumo de antibióticos son los principales factores predisponentes para al cambio de la condición patogénica de *Candida*, desde CVV asintomática a CVV sintomática.

El cultivo de *Candida* sp de paciente con CVV, no fue necesario identificarla y caracterizarla, ya que *C. albicans* constituiría la etiología en el 85-90% de los episodios²³. Sin embargo, en la última década la literatura ha informado un aumento progresivo en el aislamiento de especies de *Cándida* no *albicans* en pacientes con CVV sintomática y asintomática, las cuales representarían más del 30% de las levaduras aisladas^{24,25}.

Conforme a lo observado en este estudio el extracto etanólico de *Uncaria tomentosa* (uña de gato) y *Eucalyptus globulus* (eucalipto), ambos a 0.1%, presentaron actividad antifúngica, representada por la formación de halos de inhibición de crecimiento frente a *cándida* sp., esto corrobora el estudio realizado por Pereira y col. (2007) quienes determinaron la actividad antifúngica in vitro de extracto de *Uncaria tomentosa* “uña de gato” sobre cepas de *Cándida*, utilizando un extracto hidroalcohólico y encontrando excelente actividad antifúngica de *Uncaria tomentosa* “uña de gato”. En este estudio se concluyó que *Cándida albicans* es más sensible a la acción del extracto de uña de gato representada por la formación de halos de crecimiento en comparación con otras especies de género *Cándida*²⁶.

Días y col (2012). Realizó un estudio in vitro con el aceite esencial de *Eucalyptus globulus* sobre cepas del género *Cándida*. En el cual concluyo que las cepas de *Cándida* son sensibles frente al extracto de aceite esencial de *Eucalyptus globulus*.

Entre las cepas del género *Cándida* utilizadas en este estudio se puede apreciar que la *Cándida albicans* presenta mayor sensibilidad al extracto etanólico de Uña de Gato, por otro lado, la cepa de *Cándida albicans* ATCC 10231 presenta mayor sensibilidad al extracto etanólico de *Eucalyptus*, esto se puede deber a las posibles diferencias acerca de el origen de cada una de ellas.

Los resultados de este estudio con respecto al *Eucalyptus globulus* corroboran indirectamente con resultados obtenidos por otras investigaciones usando diferentes metodologías. Días et al. realizó un estudio in vitro con el aceite esencial de *Eucalyptus globulus* utilizando la técnica de microdilución en caldo encontrando así que la *Cándida albicans* es sensible frente al aceite esencial de *eucalyptus globulus*.

Alzamora et al. observó zona de inhibición 14 mm en *Cándida sp.* utilizando oleo de *Eucalyptus*, como podemos apreciar al utilizar diferentes metodologías los resultados varían un poco en cuanto a la efectividad del uso de *Eucalyptus globulus* en *Cándida*, esto se puede deber a que de acuerdo al tipo de extracto utilizado varían las propiedades del *Eucalyptus*.

La investigación muestra que la *Uncaria tomentosa*, popularmente conocida como “uña de gato” es una planta prometedora para el tratamiento de infecciones fúngicas, así como el *Eucalyptus globulus* “eucalipto”^{27,28}.

En los extractos tanto de *Eucalyptus* y de *Uncaria tomentosa* utilizamos Twen80 al 0.1% el cual solo sirvió como emulsificante y no tiene efecto inhibitorio en el

crecimiento de ninguno de los cultivos de *Candida*, esto se puede apreciar al observar el disco de Twen80 colocado en las placas.

En la prueba estadística se observa que las varianzas fueron homogéneas ($p > 0.05$) (se tuvo en cuenta este supuesto para aplicar la prueba t con varianzas iguales); donde, la prueba t indicó que no existió evidencia suficiente para determinar diferencias significativas ($p > 0.05$) entre las soluciones etanólicas de eucalipto y uña de gato sobre el diámetro de los halos de inhibición en *Cándida albicans* ATCC 10231, *Cándida albicans sp.* y *Cándida sp.*, esto se puede deber al número de repeticiones de tomas de medidas realizadas .

V. CONCLUSIONES

- El extracto etanólico de *Uncaria tomentosa* “uña de gato” al 0.1%, tiene actividad antifúngica sobre cultivos de *Cándida sp.*
- El extracto etanólico de *Eucalyptus globulus* “eucalipto” al 0.1%, tiene actividad antifúngica sobre cultivos de *Cándida sp.*
- Estadísticamente no hubo diferencia significativa entre la actividad del extracto etanólico de *Uncaria tomentosa* comparado con el extracto etanólico de *Eucalyptus globulus* sobre *Cándida sp.*

VI. RECOMENDACIONES

Con el extracto etanólico de *Uncaria tomentosa* se demostró que hay efecto antifúngico sobre cepas de *cándida* sp, en este sentido es muy importante que los futuros investigadores enfoquen su interés por corroborar este efecto antifúngico realizando más ensayos en el laboratorio con el fin de determinar una dosis efectiva y si se presentan efectos adversos causados por la “uña de gato”.

Con el extracto etanólico de *Eucalyptus globulus* se demostró que hay efecto antifúngico sobre cepas de *cándida* sp, en este sentido es muy importante que los futuros investigadores enfoquen su interés por corroborar este efecto antifúngico realizando pruebas, con el fin de determinar una dosis efectiva y si se presentan efectos adversos causados por “eucalipto”.

Se necesitará de estudios fitoquímicos de los cultivos de *Uncaria tomentosa* y *Eucalyptus globulus* que permitan determinar los componentes que permiten tener el efecto inhibitorio y antimicrobiano.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Jawetz E, Melnick J, Adelberg E. Microbiología Médica, 25° ed. Mc.Graw.. Hill, 2010.
2. Pouymiró Yalili, Pouymiró, Iarmila; pouymiró Pedro. Infección sistémica por Cándida en unidades de cuidados intensivos neonatales. *Medisan*, 2011;15(8), 1141-1155.
3. Arenas, R. Micología Médica Ilustrada 5° ed. Mc Graw Hill 2014.
4. Castañón L, portal UNAM-departamento de microbiología y parasitología, Candidiasis o Candidosis, 2011 [sede Web]. Disponible en: <http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/micologia/candidosis.html>
5. Pinheiro P. MD. Saude 30 de Julio de 2016 internet disponible en <http://www.mdsaude.com/es/2015/11/candidiasis-sintomas.html>
6. Suárez A, Castillo I, Carranza L. "Perfil de resistencia micótica de Candida sp. al clotrimazol, fluconazol y nistatina en mujeres durante la segunda mitad del embarazo con candidiasis vulvo-vaginal atendidas en el hospital LFM en el período de octubre-noviembre de 2015." [tesis doctoral] universidad nacional autónoma de Nicaragua 2015
7. Mahmoudi R, Zafarghandi S, Abbasabadi B, Tavallae M. The epidemiology of *Candida* species associated with vulvovaginal candidiasis in an Iranian patient population. *Eur J Obstet Gynaecol Reprod Biol.* 2010(155),199-203

8. Buscemi L, Arechavala A, Negroni R. Estudio de las vulvovaginitis agudas en pacientes adultas, sexualmente activas, con especial referencia a la candidiasis, en el hospital de infecciosas Francisco J. Muñiz. *Rev. Iberoam Micol.* 2004(21) 177-181.
9. Reynaud A. Infecciones vaginales por *Candida*: diagnóstico y tratamiento. *Rev Per Ginecol Obstet.* 2007; (53)159-166
10. Heredia, M. García, et al. Prevalencia de candidiasis vaginal en embarazadas. Identificación de levaduras y sensibilidad a los antifúngicos. *Rev. argent. microbiol.* 2006;(38).
11. Fornari, G, et al Susceptibility and molecular characterization of *Candida* species from patients with vulvovaginitis. *Braz. J. Microbiol.* 2016 ;(47), 373–380.
12. Fethers K, Fairley C, Morton A, Hocking J, Hopkins C, Kennedy L, et al. Early sexual experiences and risk factors for bacterial vaginosis. *J Infect Dis* 2009; (200)1662–1670.
13. Ilkit M, Guzel A. The epidemiology, pathogenesis, and diagnosis of vulvovaginal candidosis: a mycological perspective. *Crit Rev Microbiol.* 2011 37 (3): 250-61.
14. Ziarrusta, G. Vulvovaginitis candidiásica. *Rev Iberoam Micol*, 2002, (19), 22-4
15. Koneman E, Allen S, Janda W, Schreckenberger P, Winn W. *Diagnóstico Microbiológico.* 6° ed. Buenos Aires. Editorial Médica Panamericana. 2013.
16. Schwinn A, Ebert J, Bröcker B. Frequency of *Trichophyton rubrum* in *Tinea capitis*. *Mycoses*; 1995 (38): 1-7.

17. Organización mundial de la salud. Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional. 2014-2023 disponible en http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/95008/1/9789243506098_spa.pdf.
18. Ccahuana Vasquez, Renzo, et al. Antimicrobial activity of *Uncaria tomentosa* against oral human pathogens. *Brazilian oral research*, 2007, (21), 46-50.
19. Klaus, K; G. Laus; M. Wurm: *Uncaria tomentosa*: el uso etnomedicinal y los nuevos resultados farmacologicos, toxicologicos y botánicos; revista *journal of ethnopharmacology* 2013; (64) 23-34
20. Uña de gato *Uncaria tomentosa* (Willd.) DC. Internet 4 de diciembre de 2016 disponible en <http://static1.1.sqspcdn.com/static/f/1381323/17700869/1334599564883/plantas+antirreumaticas.pdf?token=NEoVOOPkzaRkUQDrdPqhjGmb9oY%3D>
21. Zambrano .M, Ibarra S. Efecto antimicrobiano aceite esencial de eucalipto estudio in vitro. [tesis on line] 2014 disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/2796>
22. Leonardo C, Rodrigo A, Jozinete V, Neuza C. Avaliação clínica e laboratorial do gel da *Uncaria tomentosa* (Unha de Gato) sobre candidose oral. *Brazilian Journal of Pharmacognosy* .2009 (19) 423-428.
23. Sobel J: Candidal vulvovaginitis. *Clin Obstet Gynecol* 1993; (36)152-65.
24. Redondo V, Lynch M, Schmitt C, Cook R, Sobel J: *Torulopsis glabrata* vaginitis: Clinical aspects and susceptibility to antifungal agents. *Obstet Gynecol* 1990; (76) 651-5.

25. Fidel P, Vásquez J, Sobel J: *Candida glabrata*: Review of epidemiology, pathogenesis and clinical disease with comparison to *C. albicans*. Clin Microbiol Rev 1999; (12): 80-96
26. Pereira S, Umberto; V, Jozinete; V, María M; Actividad antifúngica in vitro do Extracto da Uncaria Tomentosa L. (Unha De Gato) sobre Cepas do Género Cândida. Pesquisa Brasileira em Odontopediatria e Clínica Integrada 2011 (11). 477-480.
27. Ricardo D, Edeltrudes O. Atividade antifúngica in vitro do óleo essencial de Eucalyptus globulus L. sobre Cândida spp. Rev. Odontol UNESP 2010; 39(3): 179-184.
28. Alzamora L, Morales L, Armas L, Fernandez G. Medicina tradicional en el Perú. actividad antimicrobiana in vitro de los aceites esenciales extraídos de algunas plantas aromáticas. An Fac Med (Perú). 2001; 62: 156-61.

Anexos

ANEXO N°01

OBTENCION DE MATERIAL VEGETAL



Fig. 04. Recolección y secado de *Uncaria tomentosa*.



Fig. 05.: Recolección y secado de *Eucalyptus globulus*.

PREPARACIÓN DE EXTRACTOS



Fig.06: Preparación de extracto de uña de gato (machacado, filtrado, puesto en el rotador de vapor).



Fig.07.: Preparación de extracto de eucalipto (Machacado, filtrado, puesto en el rotador de vapor).



Fig. 08.: Extractos etanólicos preparados en maceración.

REACTIVACION DE CULTIVOS:

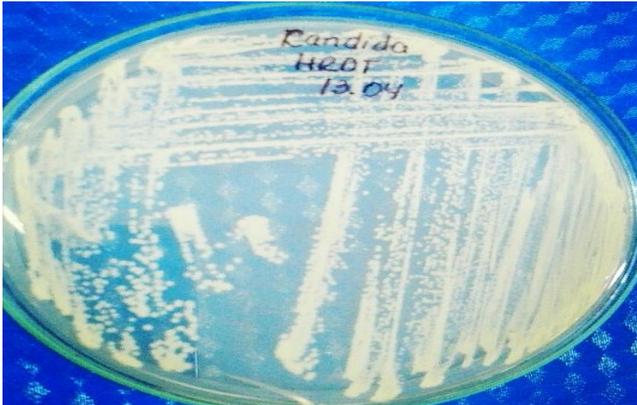


Fig. 09.: Cultivos de *Cándida sp.* proporcionadas por el Laboratorio de Microbiología del Hospital Regional Docente de Trujillo.

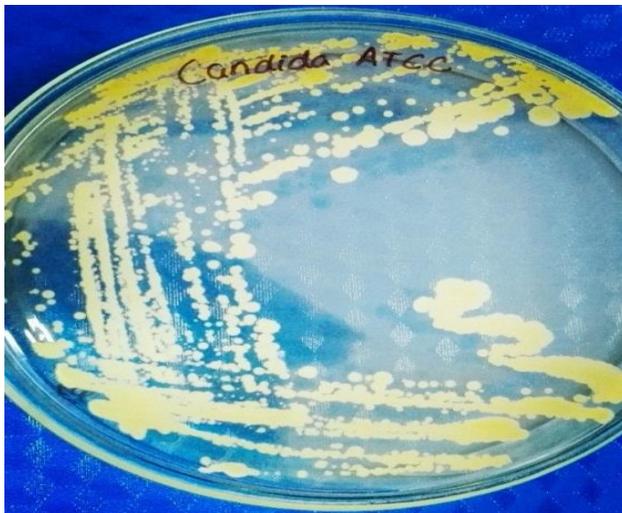


Fig. 11.: Cepa de *Cándida albicans* ATCC 10231 (American Type culture collection) proporcionada por el Laboratorio de Microbiología molecular y Biotecnología de la Universidad Privada Antenor



Fig. 10.: Cultivos de *Cándida albicans* proporcionadas por el Laboratorio de Microbiología del Hospital Regional Docente de Trujillo.

PRUEBA DE DIFUSIÓN EN DISCO

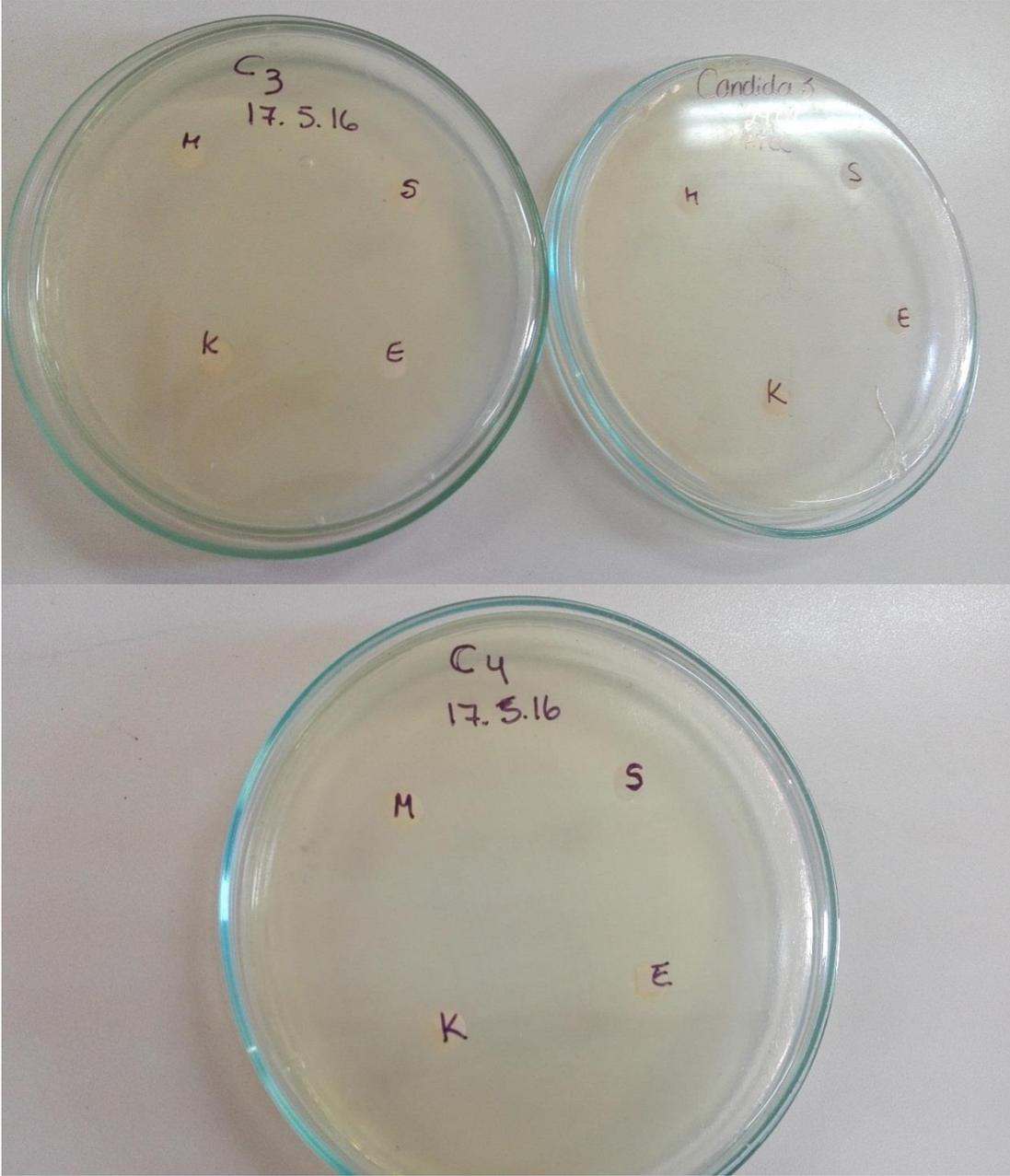


Fig. 12.: Prueba de difusión en disco

OBSERVACIÓN DE HALOS DE INHIBICIÓN

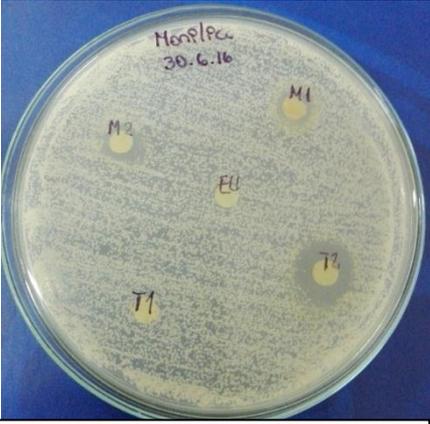


Fig. 13. Observación de halos de inhibición en *Cándida albicans*.

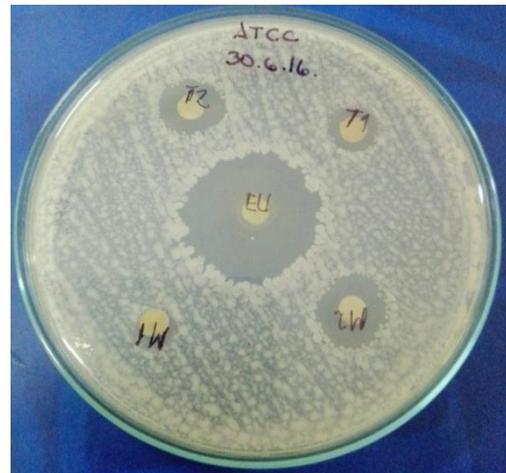


Fig. 14. Observación de halos de inhibición en *Cándida albicans* ATCC 10231.



Fig. 15. Observación de halos de inhibición en *Cándida* sp.

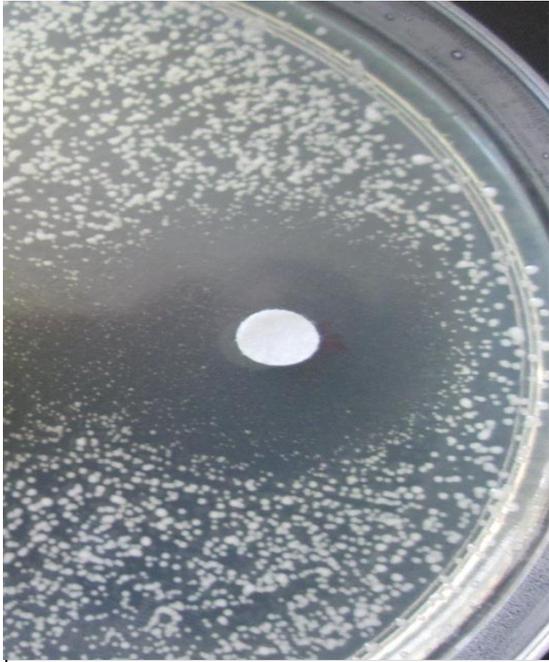


Fig. 16. Observación de halos de inhibición *en Cándida* sp. Frente al fluconazol.



Fig. 17. Observación de crecimiento de *Cándida* sp. Frente a Twen 80.



UPAO

Museo de Historia Natural y Cultural

HERBARIO ANTENOR ORREGO (HAO)

Constancia N° 28-2016-HAO-UPAO

El que suscribe, Director del Herbario Antenor Orrego (HAO), del Museo de Historia Natural y Cultural de la Universidad Privada Antenor Orrego, deja:

CONSTANCIA

Que Lourdes Fiorela Santa María Parrales y Betty Jackeline Rodríguez Grados, estudiantes de la Escuela Profesional de Obstetricia de la Universidad Privada Antenor Orrego, han solicitado la determinación de material vegetal, el cual corresponde a la siguiente especie:

Eucalyptus globulus Labill. (Myrtaceae)

Clase: Equisetopsida C. Agardh

Subclase: Magnoliidae Novák ex Takht.

Superorden: Rosanae Takht.

Orden: Myrtales Juss. ex Bercht. & J. Presl

Familia: Myrtaceae Juss.

Género: *Eucalyptus* L'Hér.

Especie: *E. globulus* Labill.

El mismo que será utilizado para la tesis titulada: "Eficacia antifúngica *in vitro* de *Uncaria tomentosa* frente a *Eucalyptus globulus* sobre *Candida* sp.".

Se expide la presente constancia a solicitud del interesado para los fines correspondientes.

Trujillo, 05 de diciembre de 2016




Segundo Leiva González
DIRECTOR
MUSEO DE HISTORIAL NATURAL Y CULTURAL



UPAO

Museo de Historia Natural y Cultural

HERBARIO ANTENOR ORREGO (HAO)

Constancia Nº 29-2016-HAO-UPAO

El que suscribe, Director del Herbario Antenor Orrego (HAO), del Museo de Historia Natural y Cultural de la Universidad Privada Antenor Orrego, deja:

CONSTANCIA

Que Lourdes Fiorela Santa María Parrales y Betty Jackeline Rodríguez Grados, estudiantes de la Escuela Profesional de Obstetricia de la Universidad Privada Antenor Orrego, han solicitado la determinación de material vegetal, el cual corresponde a la siguiente especie:

Uncaria tomentosa (Willd.) DC. (Rubiaceae)

Clase: Equisetopsida C. Agardh

Subclase: Magnoliidae Novák ex Takht.

Superorden: Asteranae Takht.

Orden: Gentianales Juss. ex Bercht. & J. Presl

Familia: Rubiaceae Juss.

Género: *Uncaria* Schreb.

Especie: *U. tomentosa* (Willd.) DC.

El mismo que será utilizado para la tesis titulada: "Eficacia antifúngica *in vitro* de *Uncaria tomentosa* frente a *Eucalyptus globulus* sobre *Candida* sp."

Se expide la presente constancia a solicitud del interesado para los fines correspondientes.

Trujillo, 05 de diciembre de 2016




Segundo Leiva González
DIRECTOR
MUSEO DE HISTORIA NATURAL Y CULTURAL