



UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO

FACULTAD CIENCIAS DE LA SALUD

CARRERA DE ODONTOLOGÍA

**“ACTIVIDAD ANTI FÚNGICA “*IN VITRO*” DE ACEITE
ESENCIAL Y EXTRACTO ALCOHOLICO DE
EUCALIPTO “*EUCALYPTUS GLOBULUS*” SOBRE
CANDIDA ALBICANS CEPA ATCC 10231”.**

Trabajo de Investigación para obtener el título de Odontólogo

Autor: Br. Adriana Elizabeth Echeverría Erazo.

Tutor: Dr. Xavier Salazar

RIOBAMBA-ECUADOR

2017

PÁGINA DE REVISIÓN DEL TRIBUNAL

Los miembros del tribunal de graduación del proyecto de investigación de título: Actividad anti fúngica “*in vitro*” de aceite esencial y extracto alcohólico de “eucalipto” *Eucalyptus globulus* sobre *Cándida albicans* cepa ATCC 10231, Presentado por Br. Adriana Elizabeth Echeverría Erazo y dirigida por el Dr. Xavier Salazar Martínez, una vez escuchada la defensa oral y revisado el informe final del proyecto de investigación con fines de graduación escrito en el cual se ha constatado el cumplimiento de las observaciones realizadas, remite la presente para uso y custodia en la biblioteca de la Facultad de Ciencias de la Salud de la UNACH para constancia de lo expuesto firman.

A las 12:00 del 19 del mes de Diciembre del año 2017

Dra. Silvia Reinoso



Presidente del tribunal

Firma

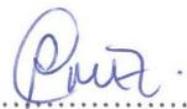
Dr. David Guerrero



Miembro del tribunal

Firma

Dra. Sandra Cruz



Miembro del tribunal

Firma



UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

CARRERA DE ODONTOLOGIA

CERTIFICADO DEL TUTOR

El suscrito Docente Tutor de la Carrera de Odontología, de la Facultad de la Salud, de la Universidad Nacional de Chimborazo Dr. Xavier Salazar **CERTIFICO**, que la Señorita Adriana Elizabeth Echeverría Erazo, con C.I: 0603822263, se encuentra apta para la presentación del proyecto de investigación: “Actividad anti fúngica “*in vitro*” de aceite esencial y extracto alcohólico de “eucalipto” *Eucalyptus globulus* sobre *Cándida albicans* cepa ATCC 10231”

Y, para que conste a los efectos oportunos, expido el presente certificado, a petición de la persona interesada, el 10 de Diciembre de 2017, en la Ciudad de Riobamba.

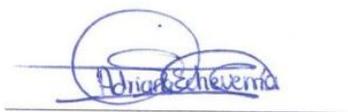
Atentamente.

Dr. Xavier Salazar

DOCENTE TUTOR DE LA CARRERA DE ODONTOLOGIA.

DERECHOS DE AUTORÍA

La responsabilidad del contenido de este proyecto de graduación, corresponde exclusivamente a: Adriana Elizabeth Echeverría Erazo y del director del proyecto Dr. Xavier Salazar; y el patrimonio intelectual de la Universidad Nacional de Chimborazo.

A handwritten signature in blue ink, reading "Adriana Echeverría", is positioned above a horizontal line. The signature is stylized with loops and is written in a cursive-like font.

C.I: 0603822263

AGRADECIMIENTO

A la Universidad Nacional de Chimborazo, a la Facultad de Ciencias de la Salud y a la carrera de Odontología por abrirme las puertas, ser parte de ella y cumplir mi sueño, y a cada uno de los docentes que me brindaron sus conocimientos y su apoyo para seguir adelante día a día. Al Dr. Xavier Salazar por brindarme su tiempo, paciencia y comprensión durante todo el proceso de preparación y culminación del presente trabajo de investigación para optar el Grado de Odontólogo. Agradezco al Ingeniero Félix Falconí por su ayuda y asesoramiento en el laboratorio de Biología Molecular – Genética. Agradezco también al Mgs. Edison Bonifaz por su ayuda y colaboración con el software informático MS. Excel y SPSS ya que mediante estos programas pude realizar el análisis e interpretación estadístico generado con la información del muestreo recopilado durante el proceso de mi investigación.

DEDICATORIA

A Dios y la Virgen por guiarme y encaminarme durante la construcción del proyecto de investigación, para obtener el título de Odontólogo. A mi hija por regalarme el tiempo que le correspondía y por ser el motor que me estimula día a día para llegar a cumplir mi sueño. A mi esposo por estar siempre apoyándome en momentos y situaciones difíciles, por su confianza y espera paciente para llegar hacer profesional. A mi madre quien ha inculcado en mí, la importancia de perseguir mis sueños y luchar hasta conseguirlos. A mis hermanos por el apoyo que siempre me brindan y por qué sé que cuento con ellos en cualquier momento gracias por enriquecer mi vida con su cariño y alegría. A mis maestros docentes por su disposición y ayuda brindada durante toda mi formación profesional.

RESUMEN

El trabajo de investigación se realizó en el Laboratorio Biomolecular y Genética de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Nacional de Chimborazo durante los meses abril - julio del 2017. El objetivo general es determinar la actividad anti fúngica “*in vitro*” de aceite esencial y extracto alcohólico de la planta aromática, *Eucalyptus globulus* “Eucalipto”, por lo que se relacionó el efecto inhibitorio en diferentes concentraciones. Para el aceite esencial se utilizó las concentraciones de 12.500ppm, 10.500ppm, 8.500ppm, 6.500ppm, 4,500ppm y 2,500; para el extracto alcohólico las concentraciones de 50,000ppm, 40,000ppm, 30,000ppm, 20,000ppm, 10,000ppm y 5,000ppm sobre *C. albicans* cepa ATCC 10231. Para dicho fin se sembró en agar Sabouroud utilizando el método de difusión en pocillos con las soluciones experimentales, se usó como micótico el Fluconazol, se realizó tres repeticiones de cada tratamiento para obtener una medida estándar, se incubó durante 18 h a 37° C, pasado dicho tiempo se procedió a la lectura de los diámetros del halo de inhibición, para el análisis estadístico se utilizó el programa SPSS y la escala de aceites esenciales de Duraffourd y Lapraz. Como resultando obtuvimos que el aceite esencial *Eucalyptus globulus* tiene actividad inhibitoria sobre *C. albicans* con un promedio de halo de inhibición 11,6mm en 2,500ppm; 10mm en 4,500; 11,3mm en 6,500; 12,3mm en 8,500ppm; 14mm en 4,500ppm y 17mm en 12,500ppm. En cambio, el extracto alcohólico no presenta actividad inhibitoria ya que las dimensiones de los halos son nulos, en un promedio de 0,83mm en 5,000ppm, 1,5 mm en 10,000ppm, 1,83 mm en 20,000ppm, 2,16 mm en 30,000ppm, 2,33mm en 40,000ppm, 2,83mm en 50,000ppm. Se determinó que el aceite esencial presenta efecto inhibitorio sobre el hongo *C. albicans*, de modo que puede ser utilizado como un agente en el control de candidiasis oral.

Palabras claves: *Eucalyptus globulus*, agar sabouroud, *Candida albicans*, actividad anti fúngica, *dimetilsulfóxido*, fluconazol.

ABSTRACT

The research work was carried out in the Biomolecular and Genetic Laboratory of the Faculty of Health Sciences of the National University of Chimborazo during the months April - July 2017. The general objective is to determine the anti fungal activity "in vitro" of oil essential and alcoholic extract of the aromatic plant, *Eucalyptus globulus* "Eucalyptus", so the inhibitory effect was related in different concentrations. For the essential oil, concentrations of 12,500ppm, 10,500ppm, 8,500ppm, 6,500ppm, 4,500ppm and 2,500 were used; for the alcoholic extract the concentrations of 50,000ppm, 40,000ppm, 30,000ppm, 20,000ppm, 10,000ppm and 5,000ppm on *C. albicans* strain ATCC 10231. For this purpose it was seeded on Sabouroud agar using the well-diffusion method with the solutions experimental, Fluconazole was used as mycotic, three repetitions of each treatment were performed to obtain a standard measurement, incubated for 18 h at 37 ° C, after which time the diameters of the inhibition halo were read, for statistical analysis The SPSS program and the Duraffourd and Lapraz essential oils scale were used. As a result, we obtained that the essential oil *Eucalyptus globulus* has inhibitory activity on *C. albicans* with an average inhibition halo of 11.6mm at 2,500ppm; 10mm at 4,500; 11.3mm at 6,500; 12.3mm at 8,500ppm; 14mm at 4,500ppm and 17mm at 12,500ppm. In contrast, the alcoholic extract has no inhibitory activity since the dimensions of the halos are null, at an average of 0.83mm in 5,000ppm, 1.5mm in 10,000ppm, 1.83mm in 20,000ppm, 2.16 mm at 30,000ppm, 2.33mm at 40,000ppm, 2.83mm at 50,000ppm. It was determined that the essential oil has an inhibitory effect on the fungus *C. albicans*, so that it can be used as an agent in the control of oral candidiasis.

Key words: *Eucalyptus globulus*, sabouroud agar, *Candida albicans*, anti fungal activity, dimethyl sulfoxide, fluconazole.



Reviewed by: González, Marcela
Language Center Professor

ÍNDICE DE CONTENIDO

PORTADA.....	i
PÁGINA DE REVISIÓN DEL TRIBUNAL.....	II
DERECHOS DE AUTORÍA.....	IV
AGRADECIMIENTO.....	V
DEDICATORIA.....	VI
ABSTRAC.....	VII
ÍNDICE DE CONTENIDO.....	VIII
ÍNDICE DE TABLAS.....	IX
ÍNDICE DE GRÁFICOS.....	X
1 INTRODUCCIÓN.....	1
2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	2
3 JUSTIFICACIÓN.....	3
4 OBJETIVOS.....	4
4.2 Objetivo General.....	5
4.2 Objetivos Específicos.....	5
5 MARCO TEÓRICO.....	6
5.1 Antifúngicos o antimicóticos.....	6
5.2 Aceite esencial.....	6
5.2.1 Obtención por arrastre de vapor.....	6
5.3 Eucalipto.....	7
5.3.1 Taxonomía.....	7

5.3.2 Hábitat y distribución.....	7
5.3.3 Clima.....	7
5.3.4 Composición química.....	8
5.3.5 Propiedades.....	8
5.3.6 Usos.....	8
5.4 Candida albicans.....	8
5.4.1 Etiología.....	9
5.4.2 Taxonomía.....	9
5.4.3 Diagnóstico.....	9
5.4.4 Tratamiento.....	10
5.5 Candidiasis oral.....	10
5.5.1 Características clínicas.....	10
6 METODOLOGÍA.....	12
6.1 Tipo de investigación.....	12
6.2 Unidades de estudio.....	12
6.3 Universo.....	12
6.4 Tipo de muestreo.....	12
6.5 Variables.....	12
6.5.1 Operacionalización de variables.....	13
6.9 Procedimientos y técnicas.....	17
6.9.1 Obtención del aceite esencial.....	17
6.9.2 Obtención del extracto alcohólico.....	17

6.9.3 Obtención del hongo.....	17
6.9.4 Medio de cultivo dilución en caldo.....	18
Siembra	18
Técnica de susceptibilidad en el caldo de difusión.....	18
Incubación.....	19
6.9.5 Evaluación de la actividad del aceite esencial de <i>E. globulus</i>	19
6.9.6 Cultivo y método de Kirby Bauer.....	19
Incubación.....	21
Interpretación de resultados.....	21
Preparación del estándar Mc. Farland para el inóculo.....	21
Inoculación de placas.....	22
7. RESULTADOS.....	23
7.1. Resultados obtenidos mediante la técnica dilución en caldo.....	23
7.2 Resultados obtenidos de la medición de halos de inhibición mediante la técnica de Kirby Bauer.....	25
7.3 Resultados obtenidos usando como literatura a Duraffour y Lapraz.....	26
7.4 Resultados obtenidos del extracto alcohólico mediante la técnica de Kirby Bauer.....	27
8. ANALISIS ESTADÍSTICO MEDIANTE EL SOFTWARE SPSS.....	28
8.1 Resultados de halos de inhibición mediante la técnica de difusión en disco (Kirby Bauer) en el aceite esencial de <i>E. globulus</i> (eucalipto).....	28
8.2 Resultados obtenidos mediante la técnica Kirby Bauer en repetición 1.....	29
8.3 Resultados obtenidos mediante la técnica Kirby Bauer en repetición 2.....	31

8.4 Resultados obtenidos mediante la técnica Kirby Bauer en repetición 3.....	33
8.5 Resultados obtenidos extracto alcohólico de <i>E. globulus</i> (eucalipto).....	35
9. DISCUSIÓN.....	40
10. CONCLUSIONES.....	41
11. RECOMENDACIONES.....	42
12. ANEXOS.....	43
13. BIBLIOGRAFÍA.....	50

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla N° 1. Taxonomía <i>C. albicans</i>	9
Tabla N° 2. Actividad antifúngica “ <i>in vitro</i> ” del aceite esencial y extracto alcohólico del <i>E. globulus</i> “eucalipto”	13
Tabla N° 3 <i>Candida albicans</i>	13
Tabla N° 4 Aceite esencial en DMSO y caldo Saboroud.....	18
Tabla N° 5. Preparación del Mix+caldo saboroud+ <i>C. albicans</i>	19
Tabla N° 6. Concentraciones del extracto alcohólico.....	20
Tabla N° 7. Concentraciones del aceite esencial <i>E. globulus</i> (eucalipto).....	21
Tabla N° 8: Actividad de los aceites esenciales según Duraffourd y Lapraz 1983.....	23
Tabla N° 9. Resultados del grado de susceptibilidad caldo de difusión.....	23
Tabla N° 10. Actividad del aceite esencial.....	24
Tabla N° 11. Resultados de sensibilidad según la escala de Duraffourd y Lapraz.....	25
Tabla N° 12. Resultado del extracto alcohólico.....	26
Tabla N° 13. Valor de medias y desviación del halo inhibitorio del aceite esencial.....	28
Tabla N° 14. Crecimiento del halo inhibitorio R1T2.....	28
Tabla N° 15. Crecimiento del halo inhibitorio R2T2.....	31
Tabla N° 16. Crecimiento del halo inhibitorio R3T2.....	33
Tabla N° 17. Valor de media y desviación del halo del extracto alcohólico.....	35

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico No. 1. Valor de la Media de Crecimiento para la concentración en R1T2.....	30
Gráfico No. 2. Valor de la Media de Crecimiento para la concentración en R2T2.....	33
Gráfico No. 3. Valor de la Media de Crecimiento para la concentración en R3T2.....	34
Gráfico No. 4. Valor de la Media de Crecimiento para la concentración en R1T3.....	36
Gráfico No. 5. Valor de la Media de Crecimiento para la concentración en R2T3.....	37
Gráfico No. 6. Valor de la Media de Crecimiento para la concentración en R3T3.....	38

1. INTRODUCCIÓN

Candida albicans es un patógeno fúngico oportunista común de los humanos,⁽¹⁾ es la especie más virulenta y prevalente, seguida por las especies no *albicans* *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. krusei*, *C. dubliniensis* y otras⁽²⁾. Es un comensal del intestino, la boca y el tracto genital, pero también es capaz de causar enfermedades en los nichos de las mucosas o diseminarse al torrente sanguíneo y causar infecciones sistémicas más serias.⁽³⁾

Se ha asociado a múltiples factores de riesgo del huésped, incluida la función de las glándulas salivales, el uso de dentaduras postizas, la alteración de la mucosa oral, el uso de drogas (administración a largo plazo de antibióticos de amplio espectro, corticosteroides, antidepresivos, antineoplásicos, medicamentos e inmunosupresores), edad (común en recién nacidos y ancianos), alteraciones endocrinas (diabetes mellitus, embarazo, insuficiencia renal e hipertiroidismo), factores dietéticos (dieta alta en carbohidratos y anemia por deficiencia de hierro), cáncer e infección por VIH.⁽⁴⁾

En individuos inmunocomprometidos, especialmente aquellos que padecen SIDA, la candidiasis puede dar como resultado lesiones localizadas y dolorosas en la cavidad oral e infecciones sistémicas potencialmente mortales. Incluso en hospedadores intactos, *Candida* puede causar infecciones persistentes en la cavidad oral, como la estomatitis en personas que usan dentaduras postizas. La candidiasis pseudomembranosa, es una de las más comunes, se caracteriza por parches blancos en las superficies de la mucosa labial y bucal, el paladar y la lengua y otras superficies de la mucosa oral. Si no se trata, los síntomas pueden dar como resultado nutrición deficiente y otras complicaciones. Además de ser una causa importante de morbilidad en pacientes inmunocomprometidos.⁽⁵⁾

El eucalipto es uno de los géneros más importantes y más plantados del mundo, pertenece a la familia de las *Myrtaceae* incluye 140 géneros y alrededor de 3800 especies distribuidas en regiones tropicales y subtropicales del mundo.⁽⁶⁾ Es un árbol de hoja perenne, alto, de crecimiento rápido y se desarrolla en una amplia gama de condiciones climáticas, nativo de Tasmania y el sudeste de Australia.⁽⁷⁾

Las especies de eucalipto son bien conocidas como plantas medicinales debido a sus propiedades biológicas y farmacológicas. *Eucalyptus globulus* (*E. globulus*), es el principal suministrador de aceites esenciales. Estos aceites esenciales tienen una gran demanda en el mercado, ya que encuentran aplicaciones como anestésicos, antisépticos, desinfectantes, expectorantes, hemostáticos, inhalantes, repelentes de insectos, remedio popular para abscesos, artritis, asma, bronquitis, quemaduras, cáncer, diabetes, diarrea, difteria, disentería, encefalitis, enteritis, erisipela, fiebre, gripe, inflamación, laringitis, lepra, malaria, mastitis, miasma, faringitis, tisis, rinitis, llagas, dolor de garganta, espasmos, y heridas.⁽⁶⁾

El interés del presente trabajo de investigación es buscar alternativas de solución a enfermedades bucales, con productos naturales, económicos y prácticos. Dentro de estos productos, encontramos numerosos estudios con eucalipto, donde entre sus efectos cabe destacar: efecto antibacteriano, anti fúngico, antiinflamatorio, antiviral, analgésico, cicatrizante, estimulando y favoreciendo la regeneración tisular sobre un importante número de microorganismos.

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La cavidad bucal es un órgano que está predispuesto a la invasión de microorganismos oportunistas como es el hongo *C. albicans* siendo su principal causa la candidiasis oral, con frecuencia se produce en personas inmunocomprometidas, incluidos pacientes con VIH y SIDA.⁽⁸⁾

Pacientes con cáncer también poseen factores que aumentan el riesgo de adquirir infecciones causadas por microorganismos oportunistas pues son pacientes inmunosuprimidos. En el estado de Yucatán, realizaron un estudio en un grupo de pacientes con cáncer, encontrando una prevalencia del 50.3%, además se observó que el 75% de los pacientes que presentaron candidiasis oral estaba colonizado por *C. albicans*, los cuales nos indican que el hongo *C. albicans* es el primer factor etiológico de cáncer, cabe destacar que este hongo es un comensal que está presente en personas sintomáticas y asintomáticas.⁽⁹⁾

Un estudio realizado por Anna CBP Costa, Cristiane A Pereira, Juliana C Junqueira, y Antonio OC Jorgese tiene el propósito de discutir nuevos estudios en la literatura que describen la candidiasis oral experimental en ratas y ratones y para comparar los diferentes métodos para la inducción. Dado que el dorso de la lengua es el hábitat principal de la levadura en la cavidad oral de individuos sanos e inmunocomprometidos, la mayoría de los estudios de candidiasis oral experimental en modelos de roedores se realizaron en el dorso de la lengua. Otra ventaja del modelo de candidiasis oral en ratas es que este modelo permite la colocación de un dispositivo protésico en el paladar para imitar a la estomatitis de *Cándida* humana, la forma más común de candidiasis oral en los portadores de prótesis de personas mayores.⁽²⁾

En el presente trabajo de investigación se estudiará si el aceite esencial y el extracto alcohólico de *E. globulus* (eucalipto) tiene mayor actividad sobre *C. albicans* cepa ATCC 10231.

3. JUSTIFICACIÓN

En el Ecuador alrededor del 70% de la población entre colonos, campesinos, indígenas nativos y pobladores urbanos, requieren el uso de plantas medicinales para curar las enfermedades y aliviar el sufrimiento físico. A pesar de esta importante tradición etnofarmacológica se excluye el potencial terapéutico de estos recursos. Existen escasos estudios fitoquímicos y microbiológicos que justifiquen o descarten las prácticas médicas tradicionales empleadas en diversas enfermedades.⁽¹⁰⁾

Las plantas medicinales tienen una gran variedad de metabolitos secundarios, en su mayoría desconocidos, con diferentes propiedades medicinales en el tratamiento de infecciones bacterianas y micóticas. En la actualidad se está dando un uso muy importante a las plantas medicinales por diferentes razones o factores. Es por ello que la población prefiere consumir cada vez más productos de origen natural.

La siguiente investigación tiene gran importancia ya que beneficiara a gran parte de la población en especial a persona de bajo nivel económico, la principal ventaja es la menor proporción de efectos colaterales que presenta el uso de plantas medicinales con respecto a la medicina convencional.

4. OBJETIVOS:

4.1 Objetivo General

- Determinar la actividad antifúngica “*in vitro*” de aceite esencial y extracto alcohólico de la planta aromática, *Eucalyptus globulus* “Eucalipto” sobre *Cándida albicans* cepa ATCC 10231.

4.2 Objetivos Específicos

- Demostrar la actividad anti fúngica in vitro del aceite esencial de *Eucalyptus globulus* “Eucalipto” a diferentes concentraciones mediante la medición de los halos de inhibición formados en el cultivo.
- Demostrar la actividad anti fúngica del extracto alcohólico de *Eucalyptus globulus* “Eucalipto” a diferentes concentraciones para determinar su sensibilidad.
- Relacionar la efectividad entre el extracto alcohólico y el aceite esencial en comparación con el fluconazol 150mg.

5 MARCO TEÓRICO

5.1 Antifúngicos o antimicóticos

Agente antifúngica o antimicótico engloba cualquier sustancia capaz de producir una alteración tal de las estructuras de una célula fúngica que consiga inhibir su desarrollo, alterando su viabilidad o capacidad de supervivencia, directa o indirectamente, lo que facilita el funcionamiento de los sistemas de defensa del huésped.⁽¹¹⁾

5.2 Aceite esencial

Los aceites esenciales son las fracciones líquidas volátiles, generalmente se obtiene por destilación por arrastre con vapor de agua, contienen las sustancias responsables del aroma de las plantas y que son importantes en la industria cosmética (perfumes y aromatizantes), de alimentos (condimentos y saborizantes) y farmacéutica.⁽¹²⁾

En el medio ambiente, los aceites esenciales tienen la función de proteger las plantas contra las lesiones causadas por microorganismos. Los aceites esenciales son productos de plantas, que tiene la función vital de provocar una mejor adaptación de la planta en el entorno donde se encuentra.⁽¹³⁾

5.2.1 Obtención por arrastre de vapor

Consiste en sumergir directamente el material vegetal a tratar en agua, que a continuación se somete a ebullición. En éste método es máxima la acción del agua sobre el material, por ello se puede presentar hidrólisis y oxidaciones. Es aconsejable cargar el agua ya caliente para disminuir la hidrólisis y el tiempo de operación. Los vapores heterogéneos se condensan y el aceite esencial se separa por diferencia de densidad.⁽¹⁴⁾

5.3 Eucalipto

El eucalipto es una planta medicinal perteneciente a la familia Myrtle. *E. globulus* es la especie de eucalipto más conocida y plantada en el mayor número de países del mundo. Es fácil de establecer, de rápido crecimiento y resiste los vientos y heladas. Es un árbol de buen porte y forma, usado como ornamental por su follaje plateado, fácilmente reconocibles por el penetrante olor a alcanfor de las hojas al estrujarlas. Tronco cilíndrico, recto, grueso, llega hasta 60 m de altura.⁽¹³⁾⁽¹⁵⁾

5.3.1 Taxonomía

Nombre común: Eucalipto

Nombre científico: *Eucalyptus globulus*

Familia: *Mirtáceas*

Género: *Eucalyptus*

Especie: *Globulus*.

5.3.2 Hábitat y distribución

Eucalyptus domina los bosques australianos y es verdaderamente la "esencia" de Australia, así como ser el árbol de plantación de madera dura dominante en el mundo. Los terpenos foliares dan a los eucaliptos su olor característico, son industrialmente importantes y median muchas interacciones ecológicas.⁽¹⁶⁾

5.3.3 Clima

A pesar de que el eucalipto posee una gran adaptabilidad climática, las introducciones más exitosas a nivel mundial han ocurrido en lugares con un clima templado y moderado o en altas elevaciones con temperaturas frías en las áreas tropicales.⁽¹⁷⁾

5.3.4 Composición química del eucalipto

Dentro de su composición química destaca su contenido de aceite esencial cuyo principal constituyente es 1,8-cineol o eucaliptol seguido de cripton, α -pineno, *p*-cimeno, α -terpineol, trans-pinocarveol, phellandral, cuminal, globulol, limoneno, aromadendreno, spathulenol y terpineno-4-ol.⁽¹⁸⁾ El 1,8-cineol es el principal componente del aceite esencial del eucalipto es el que posee propiedades antiinflamatoria y antimicrobiana contra bacterias Gram-negativas y Gram-positivas. El mecanismo de acción de los componentes del aceite esencial depende de su composición química y la ubicación de uno o más grupos funcionales en las moléculas presentes en ellos. Se propone que el daño de la membrana sea el principal mecanismo de acción. La solubilidad de los aceites esenciales en la bicapa de fosfolípidos

de las membranas celulares parece tener un papel importante en su actividad antimicrobiana.⁽¹⁹⁾

5.3.5 Propiedades

El aceite esencial de eucalipto posee propiedades anti-microbianas y antiinflamatorias las cuales les atribuye el principal componente del eucalipto 1,8-cineol, el mismo q se usa como ingrediente de algunos enjuagues bucales y preparados dentales como un solvente endodóntico y puede poseer propiedades antibacterianas.⁽²⁰⁾

También contiene propiedades expectorantes y antisépticas cualquiera que sea su vía de administración el aceite esencial se elimina en gran parte por vía pulmonar, lo que justifica su interés en el caso de infecciones rinofaríngeas y del tracto bronco pulmonar, gracias a su acción antiséptica detiene el crecimiento de microorganismos perjudiciales para nuestro aparato respiratorio tales como candida, virus de la tuberculosis.⁽²¹⁾

5.3.6 Usos

El aceite esencial de *E. globulus* es eficaz en enjuagues bucales en caso de dermatitis (encías inflamadas) y para desinfectar heridas, se utiliza también para inhalaciones e infusiones. Es un ingrediente común en cualquier producto para aliviar los síntomas de infecciones respiratorias, como el resfrío, la gripe y la congestión nasal. El aceite esencial diluido se aplica como linimento para el pecho y los senos paranasales en caso de sinusitis.⁽²⁰⁾

5.4 *Candida albicans*

C. albicans es un hongo polimórfico que se encuentra en el tracto digestivo y en otras superficies de la mucosa del cuerpo (cavidad oral y vagina). Se considera que el hongo es un constituyente normal de la microflora en el 50% de la población humana y es la causa de infecciones superficiales de la mucosa tales como aftas orales y vaginales. También es capaz de causar enfermedades potencialmente mortales y representa tasas significativas de mortalidad (40%) en personas inmunodeprimidas y en personas que reciben terapias inmunosupresoras.⁽¹⁶⁾

5.4.2 Etiología

Los hongos son huéspedes normales del ser humano, pero para que este microorganismo se transforme en patógeno es necesario que haya una alteración en la inmunidad del huésped, muchos factores predisponentes han sido identificados como importantes en el desarrollo de candidiasis oral, incluyendo la malnutrición, trastornos endocrinos, enfermedades de la sangre, inmunodeficiencias, terapia con antibióticos, corticosteroides, radioterapia uso de aparatos de ortodoncia y prótesis total, y otras condiciones inmunocomprometidos, tales como el síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA).⁽²³⁾⁽²⁴⁾

5.4.3 Taxonomía

Tabla N°1. Taxonomía *C. albicans*.

Dominio	Eucarya
Reino	Fungi
Clase	Saccharomycetes
Familia	Sacharomycetaceae
Género	Candida
Especie	<i>C.albicans</i>

Fuente: De schimmelgeslachten Monilla, Oidium, Oospora en Torula.

Elaborado por: (C.P.Robin) Berkhout 1923.

5.4.4 Diagnóstico

Para el diagnóstico de enfermedades de candida se recomienda realizar pruebas de laboratorio como exámenes microscópicos y cultivos, en el caso de desarrollar un examen microscópico de la cavidad bucal es necesario realizar un raspado con un hisopo de una lesión, se puede emplear cualquier tipo de tinción microbiológica, tradicionalmente la más utilizada es azul de metileno, la cual va a permitir ver las células de las levaduras y también la tinción de Gram, o cultivos de hongos son métodos efectivos y sensibles para la detección de la colonización oral de Candida .⁽²⁵⁾

5.4.5 Tratamiento

Al saber que la candidiasis oral es una infección oportunista debemos identificarla y eliminarla, pero antes de esto debemos prevenirla y esto se da cuando recomendamos a los pacientes a que tengan una adecuada higiene oral, enseñarles a que le den una correcta limpieza a sus placas, prótesis o implantes dentales, lengua, si presenta xerostomía se recomendará la administración de saliva artificial e inclusive disminuir la ingesta de carbohidratos. El tratamiento recomendado es la utilización de antimicóticos polienos entre estos tenemos a la nistatina y el miconazol que son fungicidas y tienen un espectro muy amplio, se los puede administrar tópicamente, por vía oral en suspensiones, pastilla o intravenosa, otro tipo de antimicóticos son los azoles que son fungistáticos estos son fluconazol e itraconazol.⁽²⁶⁾

5.5 Candidiasis oral

Existen más de 100 especies de este género, aunque la más frecuente es *C. albicans*, esta forma parte de la flora microbiana normal de la piel, del tracto gastrointestinal y del tracto genitourinario en individuos sanos. Cuando la inmunidad del huésped se ve comprometida, aumenta el riesgo de desarrollar infecciones oportunistas por *C. albicans* es la especie más común y a menudo se presenta como candidiasis bucal oral. Los factores predisponentes para la candidiasis incluyen la diabetes y otras endocrinopatías, la obesidad, el embarazo, la infección subyacente del VIH, mala higiene y tratamiento reciente con antibióticos o corticosteroides. Las personas que usan dentaduras postizas también tienen un mayor riesgo de candidiasis oral.⁽²⁷⁾⁽²⁸⁾

5.5.2 Características clínicas

Las infecciones de *C. albicans* en la cavidad bucal presentan cuadros clínicos muy variados y suelen dividirse en pseudomembranosa, eritematosa e hiperplástica. La última forma es crónica, mientras que las dos primeras se clasifican como lesiones agudas.⁽²⁾ La candidiasis pseudomembranosa aguda se caracteriza por lesiones de un color blanquecino cremoso, las cuales pueden desprenderse fácilmente con un raspado suave dejando un fondo sanguinolento por presentar este aspecto también se lo llama muget, puede afectar a la superficie de la mucosa bucal, lengua y paladar blando, se presenta en pacientes que utilizan

corticosteroides tópicamente o por aerosol, en pacientes VIH positivos y en otros tipos de pacientes inmunocomprometidos.⁽²⁹⁾

La candidiasis eritematosa se localiza en la parte posterior del paladar duro, mucosa bucal y dorso de la lengua, cuando se localiza en el paladar se presenta como una zona roja generalizada del tejido atrófico que provoca una sensación de quemazón y cuando se presenta en la lengua tiene un aspecto liso y rojo carnosos debido a la hipertrofia de papilas filiformes, esta condición está asociada a la administración de antibióticos y va a causar ardor y sensibilidad cuando se ingiera comida o líquidos calientes, ácidos, picantes o saladas.⁽³⁰⁾

Además, existen lesiones asociadas a Candida como son: queilitis angulares que es una infección bilateral de las comisuras labiales que se presenta como manchas rojas o blancas y grietas que provocan la disminución de la dimensión vertical. La candidiasis hiperplásica que es de forma lisa, de color rojo con un punteado blanco amarillento y se localizan en el paladar, dorso y laterales de la lengua y en las comisuras labiales.⁽³¹⁾

6 METODOLOGÍA

6.1 Tipo de investigación

- **Experimental.** Se valora el efecto de un hongo, donde el Investigador manipula las condiciones de la investigación.
- **Comparativo.** Permite contrastar los resultados del experimento.
- **In vitro.** La técnica para realizar el experimento se realiza en un ambiente controlado fuera de un organismo vivo.

6.2 Unidades de estudio

- Se empleó aceite esencial y extracto alcohólico de *Eucalyptus globulus* “Eucalipto” y se trabajó con cepas del hongo *C. albicans* ATCC 10231.

6.3 Universo

La actividad anti fúngica “*in vitro*” de aceite esencial y extracto alcohólico de *E. glóbulos* “Eucalipto” se valoró a través de la reacción que mostraron las cepas de *C. albicans*, hongos oportunistas pertenecientes a la flora bucal normal.

6.4 Tipo de muestreo

Candida albicans cepa ATCC 10231

6.5 Variables

6.5.1 Operacionalización de variables

Tabla N° 2. Actividad antifúngica “*in vitro*” del aceite esencial y extracto alcohólico del *E. globulus* “eucalipto”

Conceptualización	Categoría – Dimensión	Indicador	Técnica	Instrumento
La actividad antifúngica es la sustancia que inhibe el crecimiento del hongo	Actividad antifúngica “ <i>in vitro</i> ” Aceite Extracto alcohólico	Medición de halos inhibitorios Nada Poco Medio Alto Diluciones	Observación Experimentación	Bitácora de laboratorio

Fuente: Adriana Elizabeth Echeverría Erazo.

Elaborado por: Adriana Elizabeth Echeverría Erazo.

Tabla N° 3. *Candida albicans*.

Conceptualización	Categoría – Dimensión	Indicador	Técnica	Instrumento
Es un hongo diploide asexual.	Hongo Produce Candidiasis oral, vaginal, bucofaríngea	Factores ambientales (humedad) Etiología	Experimentación	Bitácora de laboratorio

Fuente: Adriana Elizabeth Echeverría Erazo.

Elaborado por: Adriana Elizabeth Echeverría Erazo

6.6 Criterios de inclusión y exclusión

6.6.1 Criterios de inclusión

- Cepas puras de *C. albicans* sin contacto con contaminantes ni fármacos
- Aceite esencial y extracto alcohólico de *Eucalyptus glóbulos* “Eucalipto” obtenido en el laboratorio de Biología Molecular y Genética de la Universidad Nacional de Chimborazo.

6.6.2 Criterios de exclusión

- Cepas de hongos no pertenecientes a *C. albicans* ATCC 10231.
- Otro derivado del aceite esencial y extracto alcohólico de *Eucalyptus globulus* “Eucalipto”

6.7 Recursos

6.7.1 Recursos ambientales:

Apoyo en la preparación del extracto alcohólico de *E. glóbulos* “Eucalipto” por el Laboratorio de Biología Molecular y Genética de la Universidad Nacional de Chimborazo.

6.7.2 Recursos humanos:

Microbiólogos

Odontólogos

6.8 Materiales

6.8.1 Materiales y equipos para extraer el extracto alcohólico

- Hojas de eucalipto molido
- Triturador
- Alcohol industrial al 96%
- Balanza
- Papel filtro
- Botellas ámbar
- Vaso de precipitación

- Rotavapor Buchi
- Equipo de vortex
- Refrigeradora

6.8.2 Materiales y equipos para extraer el aceite esencial de *E. globulus*.

- Hojas de eucalipto
- Balanza
- Cosina electrica
- Olla de presion
- Refrigerante
- Pipetas
- Refrigeradora

6.8.3 Materiales y equipos para la preparación de medios de cultivo

- Agar sabouraud con cloranfenicol
- Balanza
- Matraz de Elenmeyer
- Agua destilada
- Pipetas, probetas
- Esterilización de calor seco (horno)
- Refrigeradora
- Mascarilla, guantes
- Hisopo
- Gradillas
- Cajas Petri
- Autoclave
- Mecheros
- DMSO
- Asa de siembra

6.8.4 Materiales para la activación del hongo y antibiograma

- Cajas Petri esterelís
- Agar sabouraud con cloranfenicol
- *C. albicans* (cepa ATCC 10231)
- Asa de siembra
- Mecheros

6.9 PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS

6.9.1 Obtención de aceite esencial.

La planta en estudio, "*E. globulus*" Eucalipto fue recolectada en la provincia Chimborazo, cantón Riobamba – Ecuador. Fue trasladado a las instalaciones del laboratorio de Biología Molecular y Genética de la Universidad Nacional de Chimborazo. Se tomaron 5 kg de hojas de eucalipto sin deshidratar, las mismas que se colocaron en una olla de presión con agua que cubra todas las hojas. Mediante el sistema de hidrodestilación por gotas logramos extraer el aceite esencial del eucalipto en un período de 48 horas obteniendo 10ml, se continuo a filtrar el líquido residual del aceite extraído, una vez que obtuvimos el aceite puro se lo envasó en un frasco ámbar y se refrigero hasta el momento de su utilización.

6.9.2 Obtención de extracto alcohólico.

Las hojas fueron separadas del tallo y se las pesaron en una balanza común, se pesaron 5 kg, se colocó en el secadero lugar donde no interfiera la luz solar y sea libre de humedad durante 3 semanas, se continuó con la fase de pulverización de las hojas con un molino de mano, una vez ya trituradas las hojas secas de eucalipto se colocaron en un frasco de vidrio de color ámbar y se le agrego 1 litro de alcohol de 96%, posteriormente bien cubierto con papel aluminio en un lugar seco y fresco, alejado de la luz, lo dejamos macerar por quince días, agitándolo todos los días. El producto fue filtrado 3 veces, primero con papel filtro Whatmann N° 41, utilizando una bomba de vacío para agilitar el filtrado, obteniéndose extracto purificado libre de gérmenes. Luego el filtrado fue colocado en un recipiente de vidrio de boca ancha y se llevó a una máquina térmica de agua, que a baño María calentó 60 °C durante un 24h hasta que el alcohol se evapore por completo, quedando solo el extracto puro de *E. globulus* con un peso neto 44 ml. Luego fue colocado en un frasco de vidrio, de color ámbar para su conservación.

6.9.3 Obtención del hongo (*C. albicans*)

El hongo *C. albicans* cepa ATCC 10231 fue obtenida en la Universidad Nacional de Chimborazo, se encontraba en refrigeración, se esterilizó las cajas petri en el autoclave, pesamos y preparamos el agar sabouroud con cloranfenicol para crecimiento fúngico, a

continuación, plaqueamos el agar, se dejó secar al ambiente hasta que el medio se solidifique, para posterior inocular el hongo con un hisopo, el mismo que se mantenía en congelación - 80 grados centígrados, después de inocular las cajas petri ingresan a la incubadora a 37°C por 24 horas aproximadamente, pasado aquel tiempo se observó el desarrollo de las colonias de *C. albicans* para su posterior uso.

6.9.4 Medio de cultivo dilución en caldo

Se utilizó el agar sabouraud con cloranfenicol del cual se manejó 2,7gramos en 500ml de agua, fue colocado en un calentador hasta conseguir una mezcla uniforme, para posterior se llevada a un esterilizador. Luego de este transcurso el preparado fue colocado en 18 placas Petri.

Siembra

Para la siembra usamos un hisopo con el cual realizamos la técnica de barrido, girando las cajas Petri en diferentes direcciones para así lograr una siembra uniforme.

Técnica de susceptibilidad en el caldo de difusión

Tabla N° 4. Aceite esencial en DMSO y caldo Saboroud

N° Tratamiento y concentraciones	Volumen ul aceite esencial+ DMSO	Mix+(aceite+DMSO)
T1. 50.000ppm	300 µl A.C + 300 µl	600 µl + 100 µl
T2 40.000ppm	250 µl A.C + 300 µl	500 µl + 80 µl
T3 30.000ppm	200 µl A.C + 200 µl	400 µl + 60 µl
T4 20.000ppm	150 µl A.C + 150 µl	300 µl + 40 µl
T5 10.000ppm	100 µl A.C + 100 µl	200 µl + 20 µl
T6 5.000ppm	75 µl A.C + 75 µl	150 µl + 10 µl

Fuente: Datos recopilados en la Bitácora.
Elaborado por: Adriana Echeverría.

Tabla N° 5. Preparación del MIX + Caldo saboraund + *C. albicans*.

Tratamiento	Mix + Cs+ Ca
T 1 50.000ppm	100 µl mix+900 µl cs +10 C.a ppm
T 2 40000ppm	80 µl mix + 920 µl cs +10 C.a ppm
T 3 30000ppm	60 µl mix + 940 µl cs+10 C.a ppm
T 4 20000ppm	40 µl mix + 960 µl cs+10 C.a ppm
T 5 10000ppm	20 µl mix + 980 µl cs+10 C.a ppm
T 6 5000ppm	10 µl mix + 990 µl cs+10 C.a ppm

Fuente: Datos recopilados en la Bitácora.

Elaborado por: Adriana Echeverría.

Se procede a poner con una pipeta 100 µl del mix + C. Saboraand + *C. Albicans* en las cajas Petri.

Incubación

Se colocó las placas en posición inversa en la incubadora a 37°C por 48 horas.

Transcurrido aquel tiempo se procedió a la lectura de las cajas y observamos si su crecimiento fue positivo o negativo.

6.9.5 Evaluación de la actividad del aceite esencial de *E. globulus* “Eucalipto”

La actividad anti fúngica del aceite esencial y extracto alcohólico de *E. globulus* “Eucalipto” fue evaluado mediante el método de Kirby Bauer o conocido también como antibiograma (difusión de discos).

6.9.6 Cultivo y método de Kirby Bauer (difusión de discos).

Se esterilizo todos los materiales necesarios incluido el medio de cultivo agar Sabouroud con cloranfenicol por 30 minutos, dejamos enfriar para luego repartir en 6 cajas petri.

Se sacó de refrigeración el extracto alcohólico de *E. globulus* “*eucalipto*” en las concentraciones realizadas de 50,000ppm, 40,000ppm, 30,000ppm, 20,000ppm, 10,000ppm y 5,000ppm, las cuales fueron colocadas en discos blank con absorción estándar por disco.

También se preparó discos blank con la dilución del aceite esencial de *E. globulus* (eucalipto) con el solvente DMSO (Dimetilsulfoxido).

En las concentraciones realizadas 12,500 ppm, 10,500 ppm, 8,500 ppm, 6,500 ppm, 4,500ppm y 2,500ppm estas se colocaron en las cajas Petri.

Los seis discos de extracto alcohólico correspondían a las siguientes concentraciones:

Tabla N° 6. Concentraciones del extracto alcohólico.

Concentraciones	Extracto alcohólico + Alcohol
50.000ppm	50 µl E.a + 950 µl alcohol
40.000ppm	40 µl E.a+ 960 µl alcohol
30.000ppm	30 µl E.a + 970 µl alcohol
20.000ppm	20 µl E.a + 980 µl alcohol
10.000ppm	10 µl E.a + 990 µl alcohol
5.000ppm	5 µl E.a + 995 µl alcohol

Fuente: Adriana Elizabeth Echeverría Erazo.

Autor: Ing. Félix Falconí

Estos discos fueron impregnados con dichas soluciones para posterior a ello ser colocadas en las tres cajas Petri con la ayuda de una pinza estéril presionando suavemente sobre cada disco para asegurar un contacto completo con la superficie del agar

Se realizó la preparación de un disco blank con el antimicótico Fluconazol de 150mg el mismo que nos ayudara para el control positivo de la experimentación.

Agar sabouroud +*C. albicans* + un disco de 150mg de Fluconazol

También preparamos una caja petri con agar sabouroud + 850 µl de H2O destilada el mismo que nos ayudara como control negativo ya que mediante esto podemos observar si hubo o no contaminación del medio.

Incubación

Se colocó las placas en posición inversa a 37°C dentro de los 15 minutos posteriores a la aplicación de los discos. Después de 48 horas de incubación se examinó cada caja petri, y se midió los diámetros de los halos de inhibición alrededor de cada disco.

Lectura de las placas e interpretación de resultados.

Se midió los diámetros de los halos de inhibición, usando una regla milimetrada. Se debe mantener iluminada la parte posterior de la caja petri con una luz reflejada localizada a unos cuantos centímetros sobre un fondo negro.

Después de haber realizado la técnica de Kirby Bauer en el extracto alcohólico se realizó la misma técnica en el aceite esencial, se retiró de refrigeración el aceite esencial de eucalipto en las siguientes concentraciones:

Tabla N°7. Concentraciones aceite esencial “*E.globulus*”.

Concentraciones	Aceite esencial+ DMSO
12.500ppm	50 µl Ac+ 950 µl DMSO
10.500ppm	40 µl Ac+ 960 µl DMSO
8.500ppm	30 µl Ac + 970 µl DMSO
6.500ppm	20 µl Ac + 980 µl DMSO
4.500ppm	10 µl Ac + 990 µl DMSO
4.500ppm	5 µl Ac + 995 µl DMSO

Fuente: Adriana Elizabeth Echeverría Erazo.

Autor: Ing. Félix Falconí

Se preparó el medio de cultivo agar sabouroud con cloranfenicol para la cual antes de la inoculación del hongo preparamos la prueba de Macfarlán.

Preparación del estándar Mc. Farland para el inóculo.

Fue preparado en tubos de ensayo, suspendiendo las colonias puras aisladas de *C. albicans* en 5ml de suero fisiológico, luego preparamos 10ml de agua con 5ml de leche de magnesio, procedemos agitar las dos soluciones hasta observar que las dos tengan homogenizad.

Inoculación de las placas.

Dentro de los 15 minutos siguientes al ajuste de la turbidez del inóculo, se sumergió un hisopo estéril en la suspensión, rotar el hisopo firmemente sobre la pared interior del tubo por encima del nivel del líquido para remover el exceso del inóculo. Inocular la superficie seca de la placa de agar Sabouroud con cloranfenicol con la suspensión, estriando con el hisopo en tres direcciones para asegurar una distribución uniforme del inóculo; antes de colocar los discos se dejó secar la placa a temperatura ambiente para que cualquier exceso de humedad superficial sea absorbido.

Una vez colocados los discos impregnados con dichas soluciones se incubo durante 48 horas a una temperatura de 37°C para su posterior lectura.

De igual forma se realizó el control positivo y negativo.

En el análisis de resultados se establecerán pruebas estadísticas con el software SPSS (Statistical Package for the Social Sciences), Excel y se utilizarán tablas tomadas de la literatura de Duraffour y Lapraz (1983) de la clasificación de los aceites esenciales.

7. RESULTADOS

Los siguientes resultados se basaron en tres tipos de experimentaciones realizadas en el laboratorio de la Universidad Nacional de Chimborazo, como primer punto se realizó el tratamiento 1 (T1), el cual se basó en la técnica de dilución en caldo, se empleó 6 diluciones en diferentes concentraciones hasta obtener el crecimiento del hongo, el tratamiento 2 (T2) fue la técnica de difusión en disco, por lo que se tomó de la literatura como referencia a Duraffourd y Lapraz y en el tercer experimento se realizó la técnica difusión en disco extracto alcohólico de Eucalipto.

Tabla N° 8. Actividad de los aceites según Duraffourd y Lapraz 1983.

Actividad de los aceites esenciales	
Para un diámetro igual o inferior a 8mm, se le otorga la característica de Nula (-).	
Para un diámetro comprendido de 9 a 14mm, se le otorga como (sensible=+).	
Para un diámetro entre 15 a 19mm se le otorga como medio (muy sensible=++).	
Finalmente, para un diámetro igual o superior a 20mm es sumamente sensible (S.S.=+++).	
Fuente: Aceites esenciales 1983 Aliaga Mamani. Elaborado por: Duraffourd y Lapraz 1983.	

7.1. RESULTADOS OBTENIDOS MEDIANTE LA TECNICA DILUCION EN CALDO.

Tabla N° 9. Determinación del grado de sensibilidad frente a diferentes concentraciones.

N° Tratamiento	Concentración	Crecimiento positivo (+)	Actividad anti fúngica	R1	R2	R3
T1	50.000ppm		Actividad	-	-	-
T2	40.000ppm		Actividad	-	-	-
T3	30.000ppm		Actividad	-	+	-
T4	20.000ppm	+	+	-	+	+
T5	10.000ppm	+	+	+	+	+
T6	5.000ppm	+	+	+	+	+

Fuente: Datos recopilados en la Bitácora.

Descripción. – En la tabla N° 9 muestra los 6 tratamientos realizados mediante la técnica de dilución en caldo, se encontró que en los T1 al T3 no tuvieron actividad anti fúngica debido a la falta de formación de colonias. En el T4, T5, T6 en concentraciones de 20.000 a 5.000ppm se observó la presencia de unidades formadoras de colonias.

Análisis e interpretación: Se observó que mediante las concentraciones establecidas de 50.000ppm, 40.000ppm, 30.000ppm, 20.000ppm, 10.000ppm y 5.000ppm; dio un resultado (+) en sus concentraciones más bajas de 20.000ppm a 5.000ppm y en sus concentraciones más altas desde 50.000ppm a 30.000ppm presento (-) ausencia de crecimiento.

7.2 RESULTADOS OBTENIDOS DE LA MEDICION DE HALOS DE HINIBICION MEDIANTE LA TECNICA DE KIRBY BAUER.

Tabla N° 10. Prueba de actividad del aceite esencial.

Concentración (ppm)	R1	R2	R3	Media
2500	12mm	10mm	13mm	11.6mm
4500	11mm	9mm	10mm	10mm
6500	13mm	10mm	11mm	11.3 mm
8500	12mm	11mm	14mm	12.3 mm
10500	13mm	15mm	14mm	14mm
12500	17mm	16mm	18mm	17mm

CONTROL POSITIVO	<i>C. albicans</i>	Fluconazol 150mg	(+)	Presentó crecimiento	Halo de 10mm
CONTROL NEGATIVO	H2O + DMSO	No presento	(-)	crecimiento	

Fuente: Elaboración de datos recopilados de la bitácora.
 Autor: Adriana Elizabeth Echeverría Erazo.

Descripción. – Podemos observar la media de la medida de los halos de inhibición presentes en el método de difusión en disco a diferentes concentraciones del aceite esencial *E. globulus* (eucalipto) sobre *C. albicans* cepa ATCC 10231. Mediante los resultados obtenidos durante la lectura realizada, el halo con mayor inhibición es de 17mm en la concentración de 12.500ppm como una medida media en sus tres repeticiones, el halo de menor inhibición es de 10mm en la concentración de 4.500ppm.

Análisis e interpretación: De acuerdo a los resultados obtenidos durante la medida media se observa que a partir de la concentración 6.500 aumenta el halo de inhibición hasta la concentración de 12.500 ppm. Es decir que a partir de dichas concentraciones existe mayor efecto anti fúngico.

7.3 RESULTADOS OBTENIDOS USANDO COMO LITERATURA A DURAFFOUR Y LAPRAZ.

Tabla N° 11. Resultados de sensibilidad según Duraffour y Lapraz.

Concentración (ppm)	Medida media del halo	Resultados de sensibilidad
2500	11.6mm	sensible=+
4500	10mm	sensible=+
6500	11.3 mm	sensible=+
8500	12.3 mm	sensible=+
10500	14mm	sensible=+
12500	17mm	muy sensible=++

CONTROL POSITIVO	<i>C. albicans</i>	Fluconazol 150mg	(+)	Presentó crecimiento	Halo de 10mm
CONTROL NEGATIVO	H ₂ O + DMSO	No presento	(-)	crecimiento	

Fuente: Datos recopilados de la Bitácora.
Elaborado por: Adriana Echeverría

Descripción: Podemos observar los resultados obtenidos mediante la técnica de Kirby Bauer usando como análisis de literatura a los autores Duraffour y Lapraz, quienes clasificaron la actividad de los aceites esenciales.

Análisis e interpretación: Mediante la medida media de los halos de inhibición del aceite esencial de *E. globulus* contra *C. albicans* se observó resultados positivos (+) en las concentraciones de 2.500ppm hasta 10.500 ppm, según la literatura utilizada, en la Tabla N°6 nos indica que para un diámetro comprendido de 9 a 14mm, se le otorga como (sensible=+). Mientras que en la concentración de 12.500ppm se observó positivos (++), según los autores Duraffour y Lapraz nos indican que para un diámetro entre 15 a 19mm se le otorga como medio (muy sensible=++). Hemos podido demostrar la actividad antifúngica del *E. globulus* contra *C. albicans* cepa ATCC 10231.

7.5 RESULTADOS OBTENIDOS MEDIANTE LA TECNICA DE KIRBY BAUER.

Tabla N° 12. Resultados del extracto alcohólico.

TRATAMIENTOS	CONCENTRACIONES	R1	R2	R3	Media
T1	50.000ppm	3,00mm	2,5mm	3,00mm	2,83mm
T2	40.000ppm	2,00mm	3,00mm	2,00mm	2,33mm
T3	30.000ppm	2,5mm	2,00mm	2,00mm	2,16mm
T4	20.000ppm	2mm	2,00mm	1,5mm	1,83mm
T5	10.000ppm	1mm	1,5mm	2mm	1,5mm
T6	5.000ppm	1mm	0,50mm	1mm	0,83mm

CONTROL POSITIVO	<i>C. albicans</i>	Fluconazol 150mg	(+)	Presentó crecimiento	Halo de 7,5mm
CONTROL NEGATIVO	H2O + DMSO	No presente	(-)	crecimiento	

Fuente: Elaboración de datos recopilados de la bitácora.
Autor: Adriana Elizabeth Echeverría Erazo.

Descripción: Podemos observar los resultados obtenidos median la tecnica de Kirby Bauer en sus diferentes concentraciones.

Analisis e Interpretacion: Se obtuvo halos de inhibicion menores a 8mm dandonos como resultado un crecimiento nulo.

8. ANALISIS ESTADÍSTICO MEDIANTE EL SOFTWARE SPSS.

8.1 RESULTADOS DE HALOS DE INHIBICION MEDIANTE LA TÉCNICA DE DIFUSIÓN EN DISCOS (KIRBY BAUER) EN EL ACEITE ESENCIAL DE *E. GLOBULUS*.

Tabla N 13. Valor de medias y desviación del halo inhibitorio.

Concentraciones ppm	R1T2(mm)	R2T2(mm)	R3T2(mm)	Media(mm)	Desviación estándar
12,500	17	16	18	17	1
10,500	13	15	14	14	1
8,500	12	11	14	12,33	1,52752523
6,500	13	10	11	11,33	1,52752523
4,500	11	9	10	10	1
2,500	12	10	13	11,66	1,52752523

Fuente: Datos recopilados en la Bitácora.
Elaborado por: Adriana Echeverría.

Descripción: En la Tabla N°13 del presente estudio se determina una media y una desviación estándar para cada una de las concentraciones del aceite esencial *E. globulus*, donde la media del halo de inhibición a 12,500ppm del producto natural sobre *C. albicans* fue de 17 ± 1 , luego a 10,500ppm fue de 14 ± 1 , a partir de la concentración 8,500ppm aumento a $12,33 \pm 1,527$, 6,500ppm fue de $11,33 \pm 1,527$, en la concentración de 4,500 nuevamente disminuye a 10 ± 1 , y en la última concentración de 2,500ppm nuevamente sube a $11,66 \pm 1,527$.

Análisis e Interpretación: Comparando las medias del halo de inhibición de las diferentes concentraciones del aceite esencial de *E. globulus* sobre la *C. albicans*, se demuestra que en las concentraciones de 2,500 a 8,500ppm se mantiene constante el efecto anti fúngico, luego aumento la acción antifúngica del producto natural sobre la *Candida albicans*, presentando una mejor eficiencia del aceite esencial de *E. globulus*.

8.2 RESULTADOS OBTENIDOS MEDIANTE LA TECNICA KIRBY BAUER EN REPETICION 1.

Tabla N° 14. Crecimiento del halo inhibitorio R1T2

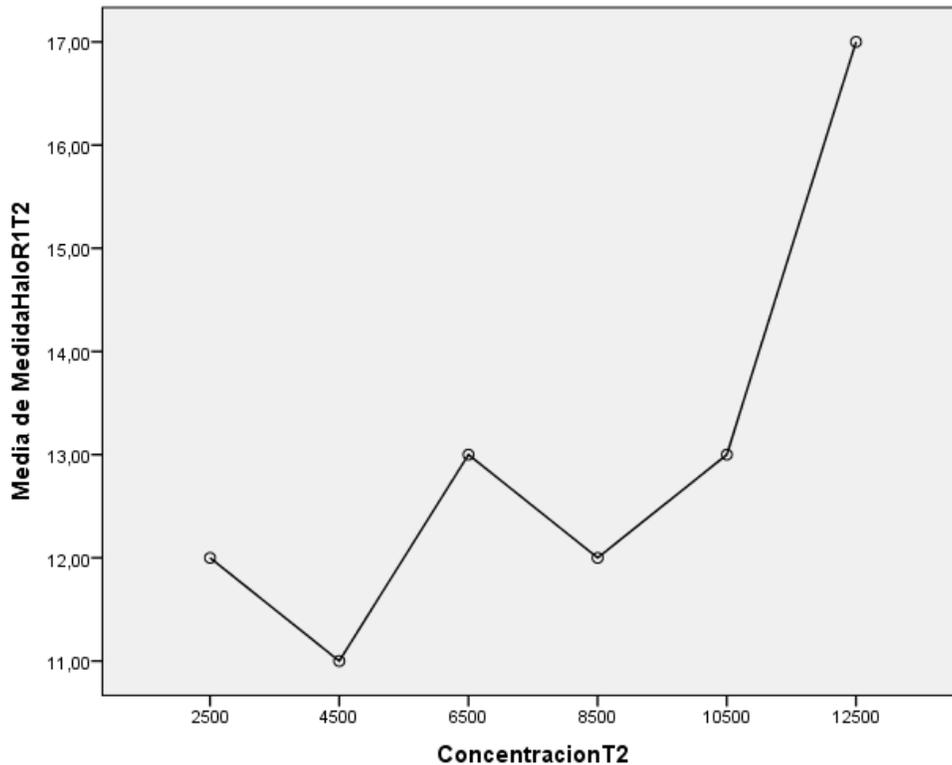
R1T2	
Concentración ppm	Crecimiento Alto
2500	+
4500	+
6500	+
8500	+
10500	+
12500	+

Fuente: Datos recopilados en la Bitácora.
Elaborado por: Adriana Echeverría.

Descripción: En la primera repetición se observa que desde la concentración 2500 hasta 12500 ppm se identifica un crecimiento de *C. albicans*, es decir que en todas las concentraciones de mayor a menor existe crecimiento.

Análisis e Interpretación: De acuerdo a los resultados se observa que en todas las concentraciones de menor a mayor existe un crecimiento de *C. albicans*.

Gráfico N° 1. Valor de la Media de Crecimiento para la concentración en R1T2.



Fuente: Valor de las medidas del Halo de Inhibición procesado en SPSS.
Elaborado por: Adriana Echeverría.

Descripción: En el gráfico indica que en la concentración de 2500 ppm del aceite esencial de *E. globulus* se observa un halo de inhibición sobre el hongo *C. albicans* de 12mm, en 4500 ppm hubo una disminución a 11mm, en 6500 ppm nuevamente el halo de inhibición aumenta a 13mm, en 8500 ppm el halo de inhibición disminuye a 12mm, luego se evidencia un aumento del halo de inhibición a 10500 ppm 13mm y finalmente en la concentración 12500 ppm se identifica un halo de 17mm.

Análisis e Interpretación: Al comparar los halos de inhibición de las diferentes concentraciones del aceite esencial de *E. globulus*, se demuestra que a partir de la concentración de 10500 ppm existe un mejor efecto anti fúngico sobre *C. albicans*.

8.3 RESULTADOS OBTENIDOS MEDIANTE LA TECNICA KIRBY BAUER EN REPETICION 2

Tabla N°15: Crecimiento del halo inhibitorio R2T2

Concentración R2T2	Ninguno	Crecimiento Alto
2500	-	+
4500	+	-
6500	-	+
8500	-	+
10500	-	+
12500	-	+

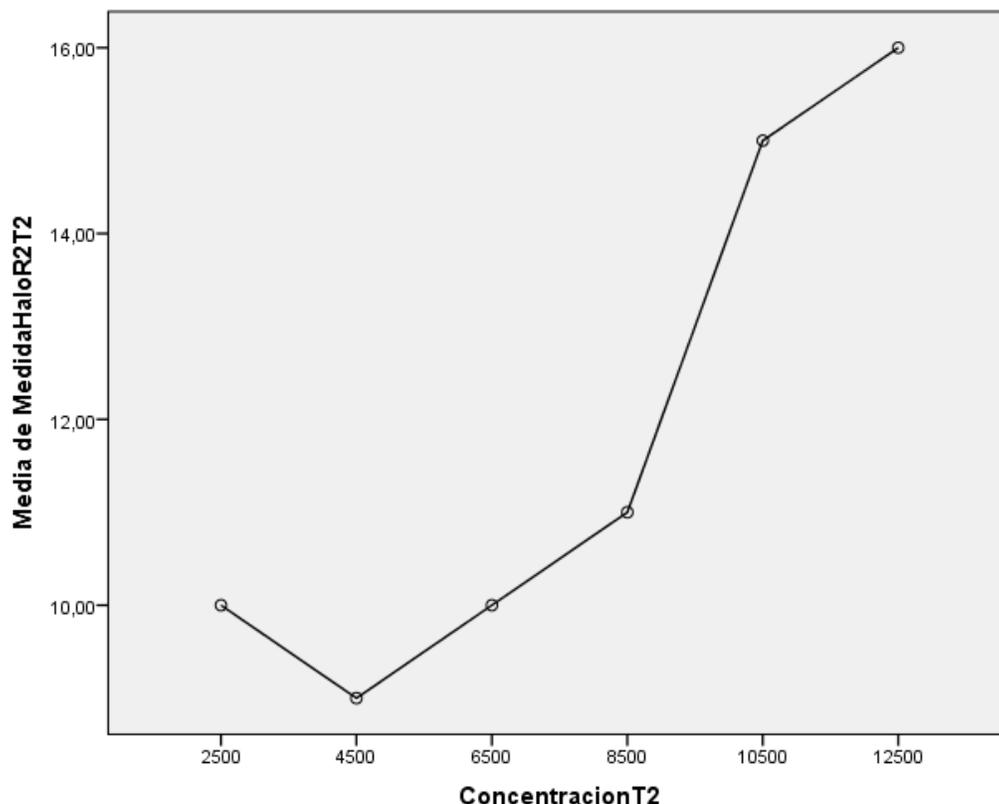
Fuente: Datos recopilados en la Bitácora.

Elaborado por: Adriana Echeverría.

Descripción: En la segunda repetición se observa que en la concentración 4500ppm del aceite esencial de *E. globulus* no se pudo identificar el crecimiento del halo de inhibición, en cambio en la concentración 2500 y desde 6500 hasta 12500ppm existe un crecimiento de halo sobre *C. albicas*.

Análisis e Interpretación: De acuerdo a los resultados obtenidos se puede observar que en a mayores concentraciones aumenta el crecimiento del halo de inhibición, por lo tanto, se establece que hay más actividad anti fúngica al incrementar las concentraciones de 6500 hasta 12500 ppm aceite esencial de *E. globulus*.

Gráfico N° 2. Valor de la Media de Crecimiento para la concentración en R2T2.



Fuente: Valor de las medidas del Halo de Inhibición procesado en SPSS
Elaborado por: Adriana Echeverría.

Descripción: En el gráfico se muestra que en la concentración 2500ppm del aceite de *Eucalyptus globulus* presentó un halo de inhibición sobre el microorganismo *C. albicans* de 10mm, a 4500ppm, existió una disminución de 9mm a continuación sigue aumentando el halo de inhibición a 6500ppm a 10mm, a 8500ppm el producto natural sobre el microorganismo *C. albicans* se evidencio un aumento del halo a 11mm, a 10500 ppm el halo fue de 15mm y finalmente a 12500 ppm el halo fue de 16mm.

Análisis e Interpretación: Al realizar una comparación de los halos de inhibición de las diferentes concentraciones del aceite esencial de *E. globulus*, se establece que, a mayor concentración de 4500 ppm, existe un aumento del efecto anti fúngico del aceite esencial sobre *C. albicans*.

8.4 RESULTADOS OBTENIDOS MEDIANTE LA TECNICA KIRBY BAUER EN REPETICION 3.

Tabla N°16: Crecimiento del halo inhibitorio R3T2.

Repeticion3Tratamiento2	
ConcentracionT2	Crecimiento Alto
2500	+
4500	+
6500	+
8500	+
10500	+
12500	+

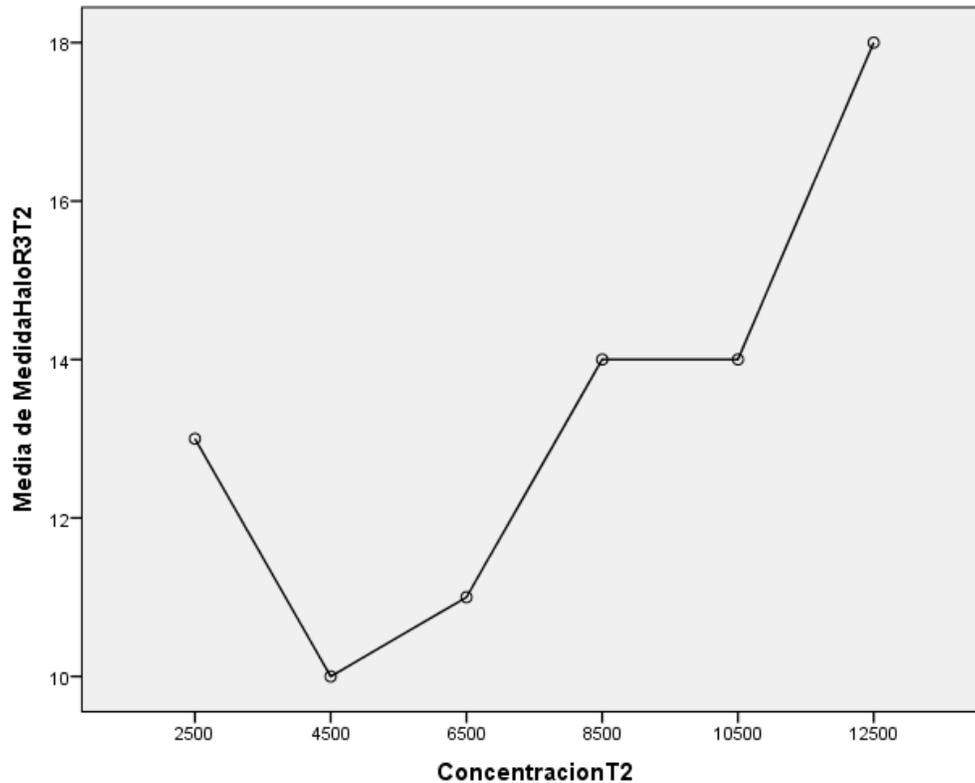
Fuente: Datos recopilados en la Bitácora.

Elaborado por: Adriana Echeverría.

Descripción: En la primera repetición podemos notar que desde la concentración 2500 hasta 12500 ppm se identifica un crecimiento de *C. albicans*, es decir que en todas las concentraciones de mayor a menor existe crecimiento.

Análisis e Interpretación: De acuerdo a los resultados se observa que en todas las concentraciones de menor a mayor existe un crecimiento de *C. albicans*.

Gráfico N° 3. Valor de la Media de Crecimiento para la concentración en R3T2.



Fuente: Valor de las medidas del Halo de Inhibición procesado en SPSS
Elaborado por: Adriana Echeverría.

Descripción: En el grafico podemos notar que en la concentración de 2500 ppm del aceite de *E. globulus* presentó un halo de inhibición sobre el microorganismo *C. albicans* de 13mm, en 4500 ppm m ostro una disminución a 10mm, luego fue aumentando el halo de inhibición a 6500 ppm a 11mm, en la siguiente concentración de 8500 y 10500 se mantuvo constante el halo de inhibición de 14mm, a 12500 ppm se observó un aumento del halo de 18mm.

Análisis e interpretación: Al realizar una comparación de los halos de inhibición de las diferentes concentraciones del aceite esencial de *E. globulus*, se establece que, a mayor concentración de 6500 ppm, existe un aumento del efecto antifúngica del aceite esencial sobre *C. albicans*.

8.5 RESULTADOS OBTENIDOS EXTRACTO ALCOHÓLICO DE *E. GLOBULUS* (EUCALIPTO)

Tabla N° 17. Media y desviación estandar del halo hinibitorio extracto alcoholico.

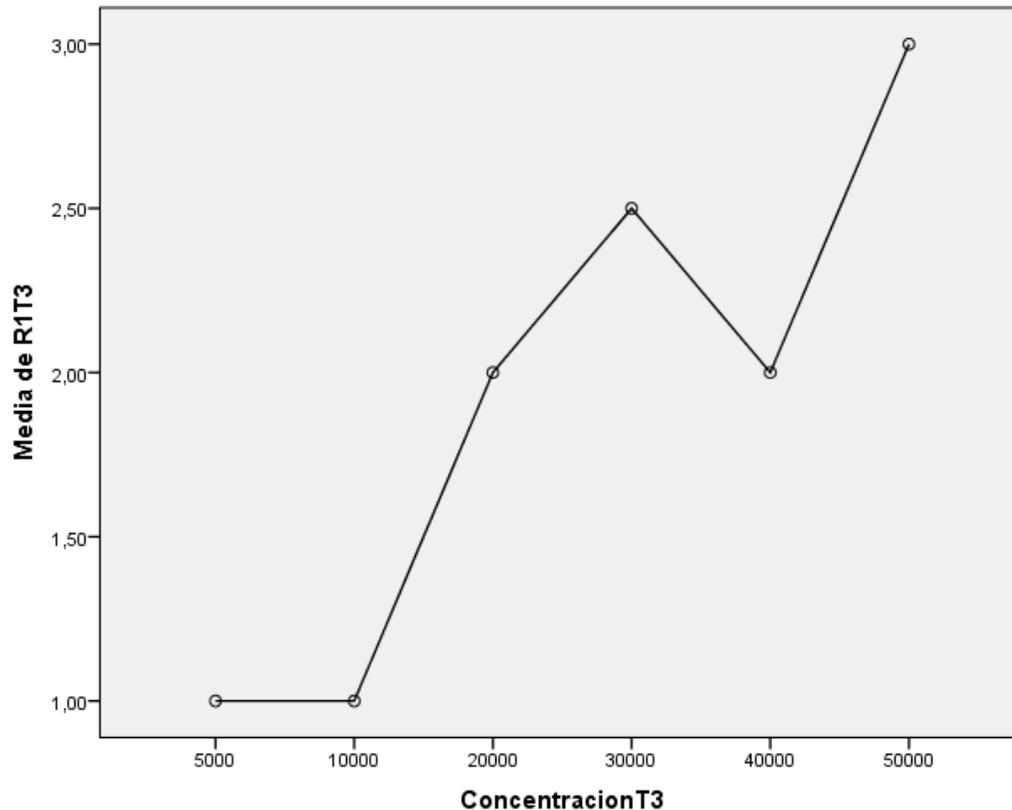
Tratamientos	Concentraciones	R1	R2	R3	Media	Desv. estand.
T1	50.000ppm	3,00mm	2,5mm	3,00mm	2,83mm	0,29
T2	40.000ppm	2,00mm	3,00mm	2,00mm	2,33mm	0,58
T3	30.000ppm	2,5mm	2,00mm	2,00mm	2,16mm	0,29
T4	20.000ppm	2mm	2,00mm	1,5mm	1,83mm	0,29
T5	10.000ppm	1mm	1,5mm	2mm	1,5mm	0,5
T6	5.000ppm	1mm	0,50mm	1mm	0,83mm	0,29

Fuente: Datos recopilados en la Bitácora.
Elaborado por: Adriana Echeverría.

Descripción: Para una concentración de 50000 ppm del extracto alcoholico de la *E. globulus* sobre la *C. albicans*, se presentó una media del diámetro del halo de inhibición de $2,83 \pm 0,29$ mm, a 40000 ppm el promedio fue de $2,33 \pm 0,58$ mm, a 30000 ppm la media obtenida fue de $2,16 \pm 0,29$ mm, a 20000 ppm fue de $1,83 \pm 0,29$ mm, en el caso de 10000 ppm la media fue de $1,5 \pm 0,5$ mm y a 5000 ppm de $0,83 \pm 0,29$ mm.

Análisis e Interpretación: Al comparar la longitud del diámetro del halo de inhibición de las diferentes concentraciones utilizadas en el estudio se evidencia que a mayor concentración de extracto alcoholico de la *E. globulus* sobre la *C. albicans* mejor es el efecto anti fúngico. No obstante, al comparar con el comportamiento del aceite de *E. globulus* se identifica que la acción antifúngica del extracto alcoholico sobre la *C. albicans* es menor que del aceite esencial.

Gráfico N° 4. Valor de la Media de Crecimiento para la concentración en R1T3

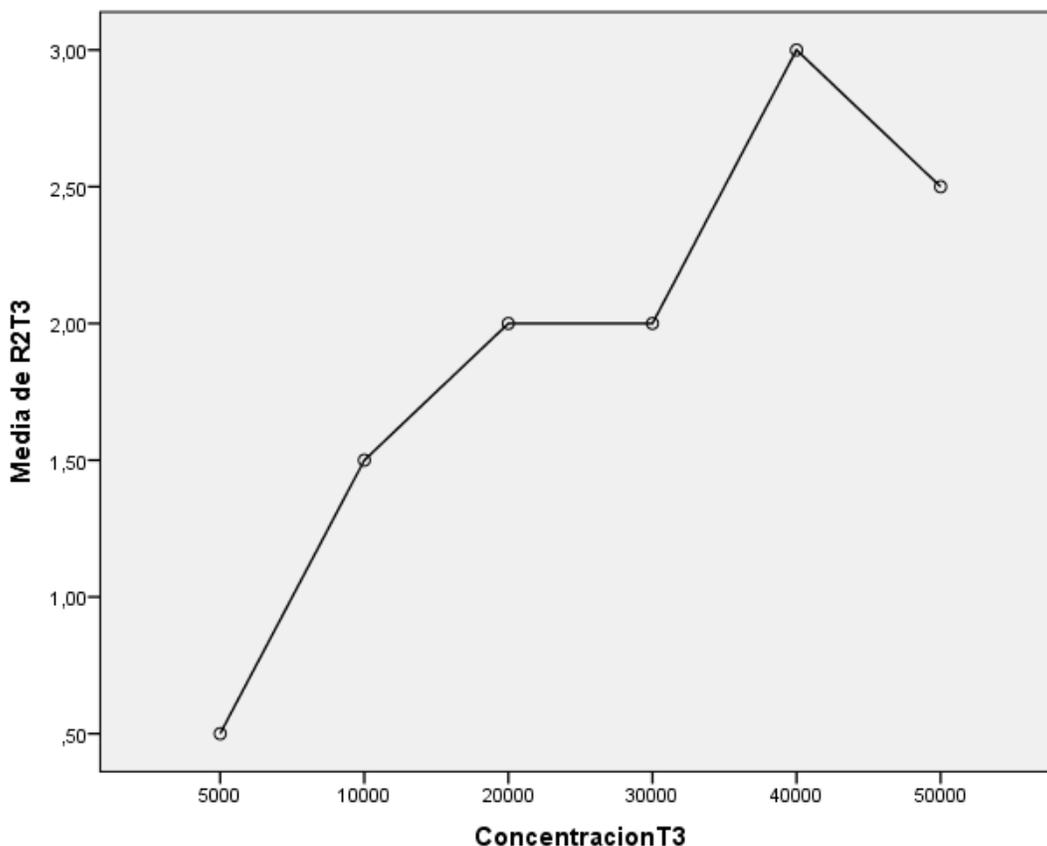


Fuente: Valor de las medidas del Halo de Inhibición procesado en SPSS
Elaborado por: Adriana Echeverría.

Descripción: En el gráfico podemos notar que en la concentración de 5000 y 10000 ppm de extracto alcohólico de *E. globulus* presentó un halo de inhibición sobre el microorganismo *C. albicans* de 1mm, en 20000 ppm mostro un aumento del halo a 2mm, luego fue aumentando el halo de inhibición a 30000 ppm a 2,5mm, en la siguiente concentración de 40000 nuevamente disminuye el halo a 2mm y en 50000 aumenta el halo de inhibición a 3mm.

Análisis e interpretación: Al realizar una comparación de los halos de inhibición de las diferentes concentraciones del extracto alcohólico de *E. globulus*, se establece que, las medidas de los halos son muy bajas por tanto no existe un efecto anti fúngico sobre *C. albicans*.

Gráfico N° 5. Valor de la Media de Crecimiento para la concentración en R2T3

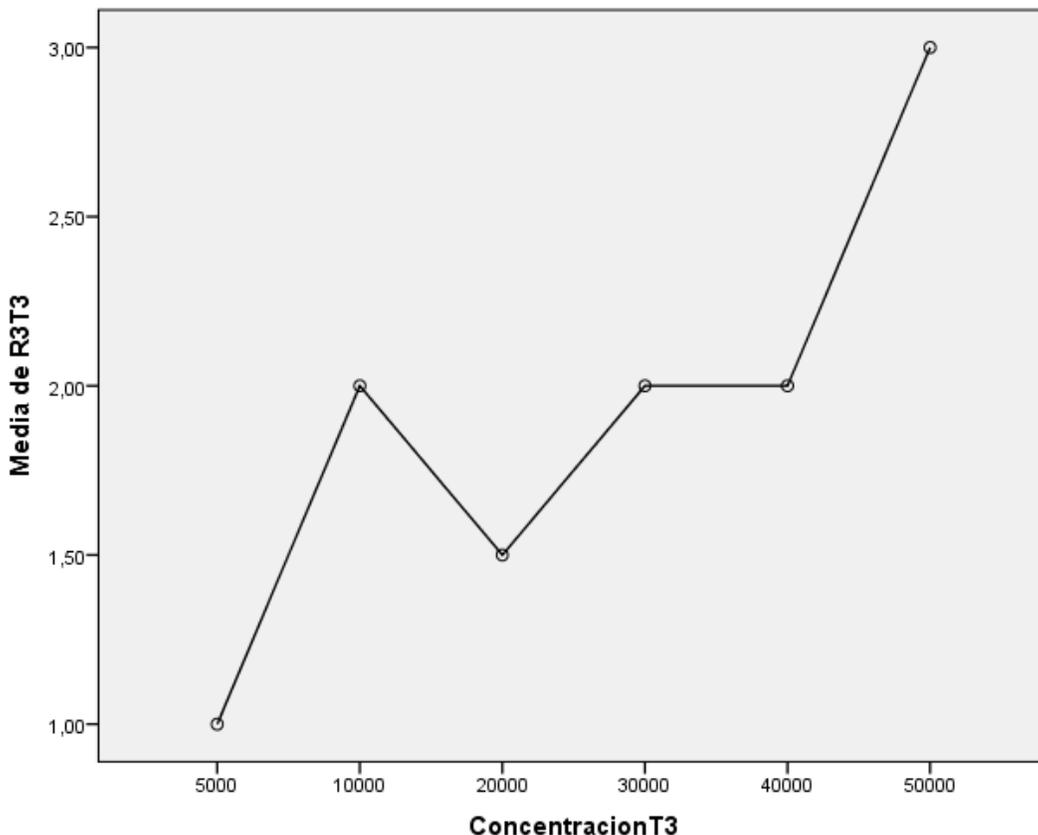


Fuente: Valor de las medidas del Halo de Inhibición procesado en SPSS
Elaborado por: Adriana Echeverría.

Descripción: En el gráfico podemos notar que en la concentración de 5000 ppm de extracto alcohólico de *E. globulus* presentó un halo de inhibición sobre el microorganismo *C. albicans* de 0,50mm, en 10000 ppm mostro un aumento del halo a 1,50mm, luego siguió aumentando el halo de inhibición a 20000 y 30000 ppm se mantuvo en 2 mm, en la siguiente concentración de 40000 se observó un halo de 3mm y finalmente en la concentración de 50000 ppm hubo una disminución del halo a 2,50mm.

Análisis e interpretación: Al realizar una comparación de los halos de inhibición de las diferentes concentraciones del extracto alcohólico de *E. globulus*, se establece que, las medidas de los halos son muy bajas por tanto no existe un efecto anti fúngico sobre *C. albicans*.

Gráfico N° 6. Valor de la Media de Crecimiento para la concentración en R3T3



Fuente: Valor de las medidas del Halo de Inhibición procesado en SPSS
Elaborado por: Adriana Echeverría.

Descripción: En el gráfico podemos observar que en la concentración de 5000 ppm de extracto alcohólico de *E. globulus* presentó un halo de inhibición sobre el microorganismo *C. albicans* de 1mm, en 10000 ppm mostro un aumento del halo a 2mm, luego nuevamente el halo de inhibición a 20000 ppm disminuyo a 1,50 mm, en la siguiente concentración de 30000 y 40000 se mantuvo un halo de 2mm y finalmente en la concentración de 50000 ppm hubo un aumento del halo a 3mm.

Análisis e interpretación: Al realizar una comparación de los halos de inhibición de las diferentes concentraciones del extracto alcohólico de *E. globulus*, se establece que, las medidas de los halos son muy bajas por tanto no existe un efecto anti fúngico sobre *C. albicans*.

9. DISCUSIÓN

El uso de aceites esenciales para controlar el crecimiento de *C. albicans* ha ganado importancia debido a la resistencia adquirida por patógenos hacia una serie de fármacos ampliamente utilizados.⁽³²⁾

Mediante un estudio realizado por Merih Şimşeky Reşat Duman⁽³²⁾ se demostró la eficacia de 1,8-cineol el constituyente principal del aceite esencial del eucalipto solo y en combinación con clorhexidina contra *C. albicans*, los valores calculados mostraron en sus resultados que la interacción sinérgica entre la clorhexidina y el 1,8-cineol no alcanzó el nivel fuerte contra el hongo *C. albicans*, llegando a la conclusión que la actividad sinérgica entre la clorhexidina y 1,8-cineol puede ser beneficiosa en la antisepsia de la piel y otras aplicaciones antisépticas para la eliminación de micro colonias que es probable que presenten una mayor resistencia a la clorhexidina sola, en cambio otro estudio publicado por Khaled Sebei, Fawzi Sakouhi , Wahid Herchi , Mohamed Larbi Khouja ,y Sadok Boukhchina,⁽³³⁾ se demostró que la actividad antifúngica del aceite esencial *E. globulus* está dado por su principal componente que es el 1,8 cineol el cual está presente en un 49.07 a 83.59%, se probó frente a varios microorganismo entre uno de ellos *C. albicans*, el diámetro de la zona de inhibición varió de 10 a 29 mm lo que nos demuestra que hubo excelente efecto inhibitorio contra el microorganismo, en esta investigación de igual manera se utilizó aceite esencial de la especie *E. globulus* el cual sirvió como anti fúngico dando los resultados positivos en el aceite esencial con un halo de inhibición de 9 a 14mm y negativo en el extracto alcohólico contra el hongo *C. albicans*.

En un estudio publicado por Javad Safaei-Ghomiy Atefeh Abbasi Ahd⁽³⁴⁾ evaluaron las propiedades antimicrobianas in vitro de aceite esencial, y extracto alcohólico del eucalipto. La concentración mínima inhibitoria (MIC) de los extractos se calculó mediante el método de dilución de caldo y la zona de inhibición se estudió mediante el método de difusión en disco de agar. La gentamicina (10 μ g / disco) y la rifampicina (5 μ g / disco) se utilizaron como controles de referencia para estudios antibacterianos y nistatina (100 μ g / disco) para estudios antifúngicos. Los resultados del estudio MIC revelaron que el aceite esencial tiene una actividad más fuerte y un espectro más amplio que el extracto alcohólico,

en relación a la presente investigación podemos decir que, la actividad antimicótica tanto del aceite esencial como del extracto alcohólico de *E. globulus* frente a *C. albicans* cepa 10231, se realizó mediante la técnica de difusión en discos (Kirby Bauer). Obteniendo como resultados en el aceite esencial *E. globulus* contra *C. albicans* un halo de inhibición de 9 a 14mm y negativo en el extracto alcohólico contra el hongo *C. albicans*.

Mediante un estudio realizado por Martín Tequida-Meneses, Mario Cortez-Rocha, Ema Carina Rosas-Burgos, Susana López-Sandoval y Consuelo Corrales-Maldonado⁽³⁵⁾ evaluaron la actividad antifúngica de un sinnúmero de las plantas silvestres, entre ellas *Eucalyptus globulus*, sobre las especies de hongos *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Penicillium chrysogenum*, *Penicillium expansum*, *Fusarium poae* y *Fusarium moniliforme*. Se mezclaron 6 g de polvo de planta y 94 ml de alcohol, utilizando como solventes metanol y etanol ambos al 70%. La extracción se hizo mediante remojo por 15 min con agitación mecánica en una placa de calentamiento-agitación y un reposo de 48 h, estos extractos causaron una inhibición del crecimiento del hongo hasta 59,3%, en comparación con el presente estudio se evaluó la actividad antifúngica de *Eucalyptus globulus* contra el hongo *C. albicans* se utilizó las hojas secas y trituradas por un molino de mano las cuales se mezclaron con alcohol al 96%, dejando macerar por 15 días en un lugar oscuro. Teniendo como resultado un crecimiento nulo ya que su halo de inhibición presento de 1,916mm.

10. CONCLUSIONES

- La media del halo de inhibición sobre el hongo *C. albicans* a las concentraciones de 2,500ppm a 8,500ppm fueron de $(10\pm 1,527\text{mm})$ hasta $(14\pm 1,527\text{mm})$, en cambio en la concentración de 12,500ppm el halo de inhibición fue de (17 ± 1) y de acuerdo a la escala de actividad de los aceites esenciales según Duraffourd y Lapraz presenta una sensibilidad media (++) , en cambio a partir de 2,500ppm a 8,500ppm su efecto antifúngica fue menor presentando una sensibilidad limite (+).
- Se concluyó que el efecto anti fúngico de extracto alcohólico de *E. globulus* “Eucalipto” a las diferentes concentraciones (50.000, 40.000, 30.000, 20.000, 10.000, 5.000 ppm), sobre el hongo *C. albicans* cepa ATCC 10231, no superó los 3 mm del halo de inhibición, por lo cual al compararse con la tabla de Duraffourd y Lapraz se le otorga un crecimiento nulo.
- Se analizó la efectividad entre el extracto alcohólico y el aceite esencial en comparación con el fluconazol 150mg, resultando en el micótico utilizado halos de hasta 10mm, en cambio en el extracto alcohólico halos menores a 3mm, dando como resultado mejor actividad en el fluconazol que en el extracto alcohólico; en el aceite esencial dieron halos de hasta 18 mm resultando más efectivo que el fluconazol.

11.RECOMENDACIONES:

- Se recomienda a los futuros investigadores que al realizar la técnica de susceptibilidad en el caldo de difusión las concentraciones del aceite esencial de la planta medicinal que se vaya a utilizar sean colocadas en discos blank con el fin de encontrar halos de inhibición y que estos puedan ser medidos.
- Se recomienda a la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Nacional de Chimborazo complementar el laboratorio de Biogenética molecular con una cámara laminar que es de suma importancia ya que esta nos sirve para evitar que en el momento que estemos trabajando con el hongo *C. albicans* pueda ocurrir una contaminación.
- Con el aceite esencial de *Eucalyptus globulus* se demostró que hay efecto anti fúngico sobre el hongo *C. albicans* cepa ATCC10231, en este sentido es muy importante que los futuros investigadores enfoquen su interés por corroborar este efecto anti fúngico realizando pruebas, con el fin de demostrar una dosis efectiva y si se presenta efectos adversos causados por el eucalipto.

12. ANEXOS

Obtención de aceite esencial *Eucalyptus globulus*.



Fuente: Adriana Elizabeth Echeverría Erazo

Autor: Adriana Elizabeth Echeverría Erazo



Fuente: Adriana Elizabeth Echeverría Erazo

Autor: Adriana Elizabeth Echeverría Erazo



Fuente: Adriana Elizabeth Echeverría Erazo

Autor: Adriana Elizabeth Echeverría Erazo



Fuente: Adriana Elizabeth Echeverría Erazo

Autor: Adriana Elizabeth Echeverría Erazo

Procedimiento para extraer el extracto alcohólico *Eucalyptus Globulus*.



Fuente: Adriana Elizabeth Echeverría Erazo

Autor: Adriana Elizabeth Echeverría Erazo



Fuente: Adriana Elizabeth Echeverría Erazo

Autor: Adriana Elizabeth Echeverría Erazo



Fuente: Adriana Elizabeth Echeverría Erazo

Autor: Adriana Elizabeth Echeverría Erazo



Fuente: Adriana Elizabeth Echeverría Erazo

Autor: Adriana Elizabeth Echeverría Erazo



Fuente: Adriana Elizabeth Echeverría Erazo

Autor: Adriana Elizabeth Echeverría Erazo



Fuente: Adriana Elizabeth Echeverría Erazo

Autor: Adriana Elizabeth Echeverría Erazo

Procedimiento para la obtención del hongo *C. albicans*.



Fuente: Adriana Elizabeth Echeverría Erazo

Autor: Adriana Elizabeth Echeverría Erazo



Fuente: Adriana Elizabeth Echeverría Erazo

Autor: Adriana Elizabeth Echeverría Erazo



Fuente: Adriana Elizabeth Echeverría Erazo

Autor: Adriana Elizabeth Echeverría Erazo

Procedimiento para el cultivo y antibiograma



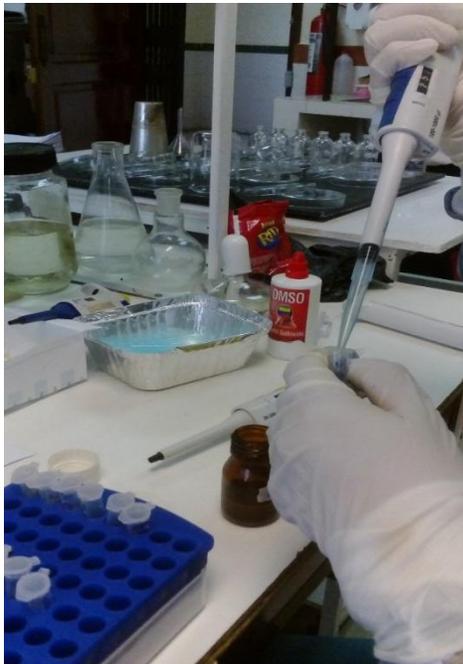
Fuente: Adriana Elizabeth Echeverría Erazo

Autor: Adriana Elizabeth Echeverría Erazo



Fuente: Adriana Elizabeth Echeverría Erazo

Autor: Adriana Elizabeth Echeverría Erazo



Fuente: Adriana Elizabeth Echeverría Erazo

Autor: Adriana Elizabeth Echeverría Erazo



Fuente: Adriana Elizabeth Echeverría Erazo

Autor: Adriana Elizabeth Echeverría Erazo

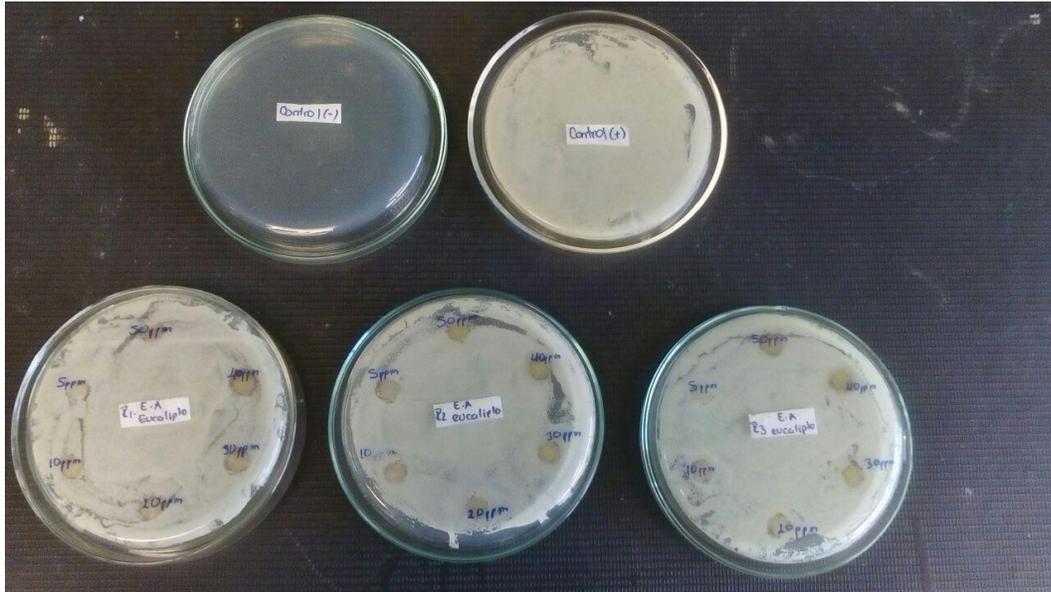
Observación de halos de inhibición del aceite esencial *Eucalyptus globulus*.



Fuente: Adriana Elizabeth Echeverría Erazo

Autor: Adriana Elizabeth Echeverría Erazo

Observación de halos de inhibición del extracto alcohólico *Eucalyptus globulus*.



Fuente: Adriana Elizabeth Echeverría Erazo

Autor: Adriana Elizabeth Echeverría Erazo

13. BIBLIOGRAFIA

1. Lu Y, Su C, Liu H. *Candida albicans* hyphal initiation and elongation. *Trends Microbiol* [Internet]. 2014 Dec [cited 2017 Nov 30];22(12):707–14. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25262420>
2. Costa ACBP, Pereira CA, Junqueira JC, Jorge AOC. Recent mouse and rat methods for the study of experimental oral candidiasis. *Virulence* [Internet]. 2013 Jul 1 [cited 2017 Aug 1];4(5):391–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23715031>
3. Anderson MZ, Bennett RJ. Budding off: bringing functional genomics to *Candida albicans*. *Brief Funct Genomics* [Internet]. 2016 Mar [cited 2017 Nov 30];15(2):85–94. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26424829>
4. Lyu X, Zhao C, Yan Z-M, Hua H. Efficacy of nystatin for the treatment of oral candidiasis: a systematic review and meta-analysis. *Drug Des Devel Ther* [Internet]. 2016 [cited 2017 Aug 8];10:1161–71. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27042008>
5. Ryan LK, Freeman KB, Masso-Silva JA, Falkovsky K, Aloyouny A, Markowitz K, et al. Activity of potent and selective host defense peptide mimetics in mouse models of oral candidiasis. *Antimicrob Agents Chemother* [Internet]. 2014 Jul [cited 2017 Dec 1];58(7):3820–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24752272>
6. Bachir RG, Benali M. Antibacterial activity of the essential oils from the leaves of *Eucalyptus globulus* against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Asian Pac J Trop Biomed* [Internet]. 2012 Sep [cited 2017 Dec 1];2(9):739–42. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23570005>
7. Bokaeian M, Nakhaee A, Moodi B, Ali Khazaei H. *Eucalyptus globulus* (eucalyptus) treatment of candidiasis in normal and diabetic rats. *Iran Biomed J* [Internet]. 2010 [cited 2017 Dec 1];14(3):121–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21079663>

8. Tooyama H, Matsumoto T, Hayashi K, Kurashina K, Kurita H, Uchida M, et al. Candida concentrations determined following concentrated oral rinse culture reflect clinical oral signs. BMC Oral Health [Internet]. 2015 Nov 24 [cited 2017 Dec 5];15:150. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26597294>
9. Rueda-gordillo F, Hernández-solís Se. Prevalencia de Candida albicans aislada de la cavidad oral de pacientes con cáncer. [cited 2017 Dec 5]; Available from: <http://www.odontologia.uady.mx/revistas/rol/pdf/V00N2p38.pdf>
10. Fresquet J, Blanquer G, Galindo M, Gallego F, García de la Cuadra R, López J, et al. Inventario de las plantas medicinales de uso popular en la ciudad de Valencia. Med y Ciencias Soc [Internet]. 2001 [cited 2017 Aug 6];13. Available from: <http://www.uv.es/medciensoc>
11. Biasoli DM. Estructura y actividad de los antifúngicos. [cited 2017 Dec 2]; Available from: http://www.fbioyf.unr.edu.ar/evirtual/pluginfile.php/4130/course/section/1519/Estructura_y_actividad_de_los_antifungicos.pdf
12. Elaissi A, Rouis Z, Salem NA Ben, Mabrouk S, ben Salem Y, Salah KBH, et al. Chemical composition of 8 eucalyptus species' essential oils and the evaluation of their antibacterial, antifungal and antiviral activities. BMC Complement Altern Med [Internet]. 2012 Jun 28 [cited 2017 Dec 2];12:81. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22742534>
13. de Godoi SN, Quatrin PM, Sagrillo MR, Nascimento K, Wagner R, Klein B, et al. Evaluation of Stability and In Vitro Security of Nanoemulsions Containing Eucalyptus globulus Oil. Biomed Res Int [Internet]. 2017 [cited 2017 Dec 2];2017:2723418. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28691021>
14. Vásquez Ribeiro O, Alva A, Valles JM. EXTRACCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE JENGIBRE (*Zingiber officinale*). Rev Amaz Investig Aliment [Internet]. 2001 [cited 2017 Dec 11];1(1):38–42. Available from: <http://www.unapiquitos.edu.pe/pregrado/facultades/alimentarias/descargas/vol1/6.pdf>

15. O'Reilly-Wapstra JM, Miller AM, Hamilton MG, Williams D, Glancy-Dean N, Potts BM. Chemical variation in a dominant tree species: population divergence, selection and genetic stability across environments. *PLoS One* [Internet]. 2013 [cited 2017 Dec 11];8(3):e58416. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23526981>
16. Külheim C, Padovan A, Hefer C, Krause ST, Köllner TG, Myburg AA, et al. The Eucalyptus terpene synthase gene family. *BMC Genomics* [Internet]. 2015 Jun 11 [cited 2017 Dec 1];16(1):450. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26062733>
17. da Silva M de CS, Paula T de A, Moreira BC, Carolino M, Cruz C, Bazzolli DMS, et al. Nitrogen-fixing bacteria in Eucalyptus globulus plantations. *PLoS One* [Internet]. 2014 [cited 2017 Dec 2];9(10):e111313. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25340502>
18. Fonnegra G. R (Fonnegra G, Jiménez R. SL (Jiménez R. Plantas medicinales aprobadas en Colombia. Editorial Universidad de Antioquia; 2007. 368 p.
19. Dagli N, Dagli R, Mahmoud RS, Baroudi K. Essential oils, their therapeutic properties, and implication in dentistry: A review. *J Int Soc Prev Community Dent* [Internet]. 2015 [cited 2017 Dec 6];5(5):335–40. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26539382>
20. Sudhoff H, Klenke C, Greiner JFW, Müller J, Brotzmann V, Ebmeyer J, et al. 1,8-Cineol Reduces Mucus-Production in a Novel Human Ex Vivo Model of Late Rhinosinusitis. *PLoS One* [Internet]. 2015 [cited 2017 Dec 6];10(7):e0133040. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26207629>
21. Jarvis GE, Barbosa R, Thompson AJ. Noncompetitive Inhibition of 5-HT₃ Receptors by Citral, Linalool, and Eucalyptol Revealed by Nonlinear Mixed-Effects Modeling. *J Pharmacol Exp Ther* [Internet]. 2016 Mar [cited 2017 Dec 6];356(3):549–62. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26669427>
22. Richardson JP, Moyes DL. Adaptive immune responses to *Candida albicans* infection. *Virulence* [Internet]. 2015 [cited 2017 Dec 1];6(4):327–37. Available

from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25607781>

23. Anibal PC, de Cássia Orlandi Sardi J, Peixoto ITA, de Carvalho Moraes JJ, Höfling JF. Conventional and alternative antifungal therapies to oral candidiasis. *Braz J Microbiol* [Internet]. 2010 Oct [cited 2017 Aug 7];41(4):824–31. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24031562>
24. Machado AG, Komiyama EY, Santos SSF Dos, Jorge AOC, Brighenti FL, Koga-Ito CY. In vitro adherence of *Candida albicans* isolated from patients with chronic periodontitis. *J Appl Oral Sci* [Internet]. 2011 Aug [cited 2017 Dec 1];19(4):384–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21710096>
25. Armstrong AW, Bukhalo M, Blauvelt A. A Clinician’s Guide to the Diagnosis and Treatment of Candidiasis in Patients with Psoriasis. *Am J Clin Dermatol* [Internet]. 2016 Aug [cited 2017 Dec 4];17(4):329–36. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27435194>
26. Angiolella L, Stringaro AR, De Bernardis F, Posteraro B, Bonito M, Toccaceli L, et al. Increase of virulence and its phenotypic traits in drug-resistant strains of *Candida albicans*. *Antimicrob Agents Chemother* [Internet]. 2008 Mar [cited 2017 Dec 3];52(3):927–36. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18180350>
27. Chímenos Küstner E, Puy Carrión D, López López J, Küstner CE, Carri ón PD, López LJ, et al. Fármacos antifúngicos utilizados en el tratamiento de las micosis Antifungüldrugs used in the management ofmjcosis. [cited 2017 Dec 2]; Available from: <http://diposit.ub.edu/dspace/bitstream/2445/100780/1/520872.pdf>
28. Armstrong AW, Bukhalo M, Blauvelt A. A Clinician’s Guide to the Diagnosis and Treatment of Candidiasis in Patients with Psoriasis. *Am J Clin Dermatol* [Internet]. 2016 Aug [cited 2017 Aug 7];17(4):329–36. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27435194>
29. Pankhurst CL. Candidiasis (oropharyngeal). *BMJ Clin Evid* [Internet]. 2009 Mar 18 [cited 2017 Dec 1];2009. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19445752>

30. Samaranayake YH, Samaranayake LP. Experimental oral candidiasis in animal models. *Clin Microbiol Rev* [Internet]. 2001 Apr [cited 2017 Dec 1];14(2):398–429. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11292645>
31. Singh A, Verma R, Murari A, Agrawal A. Oral candidiasis: An overview. *J Oral Maxillofac Pathol* [Internet]. 2014 Sep [cited 2017 Dec 1];18(Suppl 1):S81-5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25364186>
32. Şimşek M, Duman R. Investigation of Effect of 1,8-cineole on Antimicrobial Activity of Chlorhexidine Gluconate. *Pharmacognosy Res* [Internet]. 2017 [cited 2017 Dec 6];9(3):234–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28827963>
33. Sebei K, Sakouhi F, Herchi W, Khouja ML, Boukhchina S. Chemical composition and antibacterial activities of seven Eucalyptus species essential oils leaves. *Biol Res* [Internet]. 2015 Jan 19 [cited 2017 Dec 6];48(1):7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25654423>
34. Safaei-Ghomi J, Ahd AA. Antimicrobial and antifungal properties of the essential oil and methanol extracts of Eucalyptus largiflorens and Eucalyptus intertexta. *Pharmacogn Mag* [Internet]. 2010 Jul [cited 2017 Dec 6];6(23):172–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20931074>
35. Tequida-Meneses M, Cortez-Rocha M, Rosas-Burgos EC, López-Sandoval S, Corrales-Maldonado C. Efecto de extractos alcohólicos de plantas silvestres sobre la inhibición de crecimiento de *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Penicillium chrysogenum*, *Penicillium expansum*, *Fusarium moniliforme* y *Fusarium poae*. *Rev Iberoam Micol* [Internet]. 2002 [cited 2017 Dec 11];19:84–8. Available from: <http://www.reviberoammicol.com/2002-19/084088.pdf>

