



# Revista Médica de Trujillo

Publicación oficial de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de Trujillo - Perú

## Artículo Original

### Comparación del efecto *in vitro* de los aceites esenciales de *Eucalyptus globulus* y *Origanum vulgare* sobre *Candida albicans* aislada de paciente con candidiasis vulvovaginal

Comparison of *Eucalyptus globulus* and *Origanum vulgare* essential oils' *in vitro* effect on *Candida albicans* isolated from a vulvo vaginal candidiasis patient

Olga Karina Durango-Chávez<sup>1,a</sup>, Elva Manuela Mejía-Delgado<sup>1,b</sup>

1.Universidad Privada Antenor Orrego – UPAO. a. Alumna de pre grado b. Profesora auxiliar de inmunología

Correspondencia: Olga Karina  
Durango Chávez

Email [olga.k.c@gmail.com](mailto:olga.k.c@gmail.com)

Recibido: 02/08/19

Aceptado: 25/01/20

#### RESUMEN

**Objetivo:** Comparar el efecto *in vitro* del aceite esencial de *Eucalyptus globulus* con el aceite esencial de *Origanum vulgare* sobre el crecimiento de *Candida albicans* aislada de paciente con candidiasis vulvovaginal. **Material y métodos:** *Candida albicans* aislada de paciente con candidiasis vulvovaginal para las pruebas *in vitro*. La actividad antifúngica se determinó por el método Kirby y Bauer o de difusión de discos; la concentración inhibitoria mínima (CIM) y la concentración mínima fungicida (CMF) mediante el conteo de las unidades formadoras de colonias (UFC). **Principales medidas de resultados:** Halos de inhibición, CIM, CMF. **Resultados:** se determinó que la diferencia de las medias entre los diámetros de los halos de inhibición de las concentraciones al 25%, 50%, 75% y 100% del aceite esencial de *Eucalyptus globulus* y del aceite esencial de *Origanum vulgare* es significativa, ya que p valor .0000, siendo menor que el nivel de significancia ( $p < 0.05$ ), con lo que se determinó que el primero presentó menor efecto inhibitorio que el segundo. Se determinó que la CMI del aceite esencial de *Eucalyptus globulus* fue de 50% y del aceite esencial de *Origanum vulgare* fue de 25%, en los cuales, se observó ausencia de turbidez. Se observó que solamente el aceite esencial de *Origanum vulgare* presentó a partir de la concentración 75% (UFC = 0), el cual fue considerado como la concentración mínima fungicida (CMF). **Conclusiones:** El aceite esencial de *Eucalyptus globulus* presenta menor efecto inhibitorio que el aceite esencial de *Origanum vulgare* sobre el crecimiento de *Candida albicans* aislada de paciente con candidiasis vulvovaginal en condiciones *in vitro*. **Palabras Clave:** *Candida albicans*; *Eucalyptus globulus*; *Origanum vulgare*.

#### SUMMARY

**Goal:** To compare the *in vitro* effect of *Eucalyptus globulus* essential oil with the essential oil of *Origanum vulgare* on the growth of *Candida albicans* isolated from a patient with vulvovaginal candidiasis. **Material and Methods:** *Candida albicans* isolated from patient with vulvovaginal candidiasis for *in vitro* study. The antifungal activity was determined by the Kirby and Bauer method or disc diffusion; the minimum inhibitory concentration (MIC) and the minimum fungicidal concentration (MFC) by counting the colony forming units (CFU). **Main outcome measures:** Inhibition halos, MIC, MFC. **Results:** it was determined that the difference of the means between the diameters of the inhibition haloes of the concentrations of 25%, 50%, 75% and 100% of the essential oil of *Eucalyptus globulus* and of the essential oil of *Origanum vulgare* is significant, since p value .0000, being lower than the level of significance ( $p < 0.05$ ), with which it was determined that the former had less inhibitory effect than the latter. It was determined that the MIC of the essential oil of *Eucalyptus globulus* was 50% and the essential oil of *Origanum vulgare* was 25%, in which, absence of turbidity was observed. It was observed that only the essential oil of *Origanum vulgare* presented from the concentration 75% (CFU = 0), which was considered as the minimum fungicidal concentration (CMF). **Conclusions:** The essential oil of *Eucalyptus globulus* has a lower inhibitory effect than the essential oil of *Origanum vulgare* on the growth of *Candida albicans* isolated from a patient with vulvovaginal candidiasis under *in vitro* conditions. **Keywords:** *Candida albicans*; *Eucalyptus globulus*; *Origanum vulgare*.

## INTRODUCCIÓN

La infección vulvo vaginal por *Candida* es en gran medida una condición asociada con el quehacer médico siendo una de las principales causas de morbilidad y mortalidad en el entorno sanitario<sup>(1)</sup>. Las infecciones por *Candida* son principalmente superficiales, pero en pacientes severamente inmunocomprometidos pueden ocurrir infecciones sistémicas graves<sup>(2)</sup>.

La vulvovaginitis infecciosa es la patología ginecológica detectada con más frecuencia en la atención primaria<sup>(3)</sup>; es la segunda infección del tracto genital comúnmente encontrada entre las mujeres<sup>(4)</sup>. Su fisiopatología se explica por la invasión y proliferación de patógenos oportunistas que normalmente conforman la flora vaginal. Y es el resultado de un desequilibrio ambiental en el pH vaginal o producto de una infección de transmisión sexual<sup>(3,5)</sup>.

La enfermedad se caracteriza por la inflamación de la mucosa genital como respuesta a la proliferación de la levadura<sup>(6)</sup>; “se presenta con secreción vaginal de tipo cuajada, picazón y eritema. Se estima que entre el 70 y 75% de las mujeres adultas sanas desarrollan vulvovaginitis por *Candida* al menos una vez en su vida y el 50% sufren eventos recurrentes”<sup>(7)</sup>. Pineda et al. refieren que los países Latinoamericanos presentan frecuencias de candidiasis vulvovaginal muy parecidas a las reportadas en países como Estados Unidos de América; del mismo modo, *Candida albicans* es el agente etiológico de mayor prevalencia.<sup>(8,9)</sup>

La resistencia a los antifúngicos presenta implicaciones importantes en la morbilidad y la mortalidad de las micosis; las consecuencias clínicas de esta resistencia se observan en los fallos en el tratamiento y prevalencia de las especies fúngicas. Por analogía con lo observado con los antibacterianos, el uso más frecuente de antifúngicos podría producir un aumento en la resistencia microbiana a estos fármacos<sup>(10,11)</sup>.

“Las especies de *Candida* son capaces de eludir la adquisición a largo plazo de los fenotipos

relacionados con la virulencia y la resistencia a las drogas, además define la resistencia a múltiples fármacos como la adquisición simultánea de la tolerancia a una variedad de fármacos a través de un cambio genético limitado o incluso solo”<sup>(12,13)</sup>. “Existen mecanismos por los que *Candida* puede adquirir resistencia a un azol. Uno es por mutaciones moleculares de la enzima diana del antifúngico, como la alteración de las enzimas relacionadas en la síntesis del ergosterol y el segundo por la alteración en las bombas de expulsión: ATP-binding cassette (ABC) y facilitadores mayores”<sup>(14,15)</sup>.

Perurera M et al evaluaron los patrones de susceptibilidad in vitro de 28 aislados vaginales de *Candida*, frente a diferentes antifúngicos (5-fluorocitosina, anfotericina B, fluconazol, itraconazol y voriconazol). De los 16 aislados de *C. albicans*, la totalidad fue sensible a la anfotericina B, dos de los aislados de *C. albicans* mostraron resistencia al fluconazol, dos al itraconazol, mientras que para el voriconazol un aislado. Al evaluar la 5-fluorocitosina, 15 aislados fueron sensibles y uno fue resistente<sup>(16)</sup>.

El fluconazol es el antifúngico recomendado para el tratamiento de candidiasis vulvovaginal recurrente- En las guías clínicas de Alemania publicadas en el año 2015, recomiendan utilizar clotrimazol o ketoconazol de en crema de manera local, o fluconazol de 150 mg vía oral. No obstante, también recalcan que la mitad de las mujeres al concluir el tratamiento presentarán recurrencia de esta enfermedad<sup>(17)</sup>.

Según lo observado con anterioridad el aumento de la resistencia a los antifúngicos utilizados como tratamiento para *C. albicans*, ha generado el interés en investigaciones dirigidas a los agentes fitoterapéuticos por las mínimas reacciones farmacológicas que presenta, teniendo incluso mayor potencial farmacológico que los productos de origen sintético<sup>(18)</sup>.

Los aceites esenciales, o esencias de plantas aromáticas, son sustancias volátiles y fragantes con una consistencia aceitosa típicamente producida por las plantas. Pueden ser líquidos a

temperatura ambiente, aunque algunos de ellos son sólidos o resinosos, y muestran diferentes colores que varían de amarillo claro a verde esmeralda; de azul a rojo marrón oscuro. Son sintetizados por todos los órganos vegetales, es decir, brotes, flores, hojas, tallos, ramas, semillas, frutos, raíces, madera o corteza<sup>(19)</sup>. "Respecto a su método de extracción, logran extraerse mediante: destilación con vapor de agua, extracción con solventes volátiles, enflorado y con efusiones disolventes"<sup>(20,21,22,23)</sup>.

El *Eucalyptus*, corresponde a la familia Myrtaceae y alcanza alrededor de 900 variedades y subvariedades. Se cultiva principalmente para obtener madera, pulpa y aceites esenciales que presentan propiedades medicinales y usos terapéuticos. El valor del aceite de eucalipto para fines medicinales se basa en gran medida en el contenido de un componente de aceite en particular: 1,8-cineol o también conocido como cineol o eucaliptol<sup>(24,25,26)</sup>.

El "orégano" es una planta herbácea que se caracteriza por tener un olor característico, perenne y aromático. Taxonómicamente está representado por cuatro familias: Asteraceae, Fabaceae, Lamiaceae y Verbenaceae; siendo las más representativas las 2 últimas. Han sido registradas hasta el momento de 24 a 61 especies, distribuidas en 16 a 27 géneros. A nivel mundial es representada por 2 especies: *Origanum vulgare* perteneciente a la familia Lamiaceae, nativo de Europa y *Lippia graveolens* perteneciente a la familia Verbenaceae, originaria de América. De mayor importancia industrial y farmacéutica es su aceite esencial; el cual posee propiedades antibacteriales, antifúngicas, antiparasitarias, antimicrobianas y antioxidantes. Es una planta rica en monoterpenos fenólicos, principalmente carvacrol y timol<sup>(27)</sup>. Estos metabolitos poseen elevados niveles de actividad antimicrobiana y antimicótica, siendo el timol el de mayor actividad<sup>(28)</sup>.

Alzamora et al investigaron la actividad antimicrobiana de los aceites esenciales de cinco vegetales empleados en Medicina Tradicional en

el Perú: *Eucalyptus globulus*, *Cymbopogon citratus*, *Tagetes pusilla*, *Senecio tephrosioides*, *Lepechinia meyenii*. Los aceites esenciales obtenidos por destilación por arrastre de vapor, se enfrentaron a *Salmonella typhi*, *S. typhimurium*, *S. enteritidis*, *Candida albicans* ATCC 10231, entre otros. "Se emplearon discos de antibióticos para controles; en donde *Candida albicans*, resultó sensible a los aceites de *Tagetes pusilla* y *Cymbopogon citratus*, con baja sensibilidad para los aceites de *Senecio tephrosioides* y *Eucalyptus globulus*"<sup>(29)</sup>.

Similar al estudio mencionado anteriormente, Rodríguez B et al demostraron la actividad antifúngica in vitro de *Uncaria tomentosa* (uña de gato) y *Eucalyptus globulus* (eucalipto) sobre *Candida sp.* Se preparó extractos etanólicos y se reactivaron los cultivos de *Candida albicans* ATCC 10231, *Candida albicans* y *Candida sp.*. Se pudo apreciar que *Candida albicans* presenta mayor sensibilidad al extracto etanólico de Uña de Gato, por otro lado, la cepa de *Candida 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<sup>(30)</sup>.

En el año 2016 se determinó el efecto antifúngico del extracto de aceite de orégano, carvacrol, frente a *Candida albicans*, recurriendo al método de Kirby-Bauer o de difusión en disco. Se determinó que el extracto de aceite de orégano tuvo un efecto inhibitorio in vitro frente a *Candida albicans*, al comparar los halos de inhibición según la escala de Duraffourd para las cuatro concentraciones utilizadas<sup>(31)</sup>.

Valverde, mediante el conteo celular, a través de la cámara de Neubauer, comparó la actividad antimicótica entre los dos aceites esenciales de orégano al 100% de concentración procedentes de las provincias de Chimborazo y Santa Elena, utilizando volúmenes de 0.3 y 0.5 mL, midiendo el número de células a diferentes tiempos de inmersión delacrílico de termopolimerización inoculado con *Candida albicans*; y se determinó que al utilizar 0.5 mL de ambos aceites se obtiene un mejor efecto antimicótico, en relación a cuando se aplica 0.3 mL, y a su vez los aceites

esenciales de orégano de las dos provincias son más efectivos en comparación al control positivo con Nistatina<sup>(32)</sup>.

Este trabajo de investigación está dentro de las estrategias consideradas por la OMS, siendo una de ellas, integrar la Medicina no tradicional en la prestación de los servicios de salud. El presente estudio busca evaluar el efecto inhibitorio de los aceites esenciales de *Eucalyptus globulus* y *Origanum vulgare* frente a *Candida albicans*.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### Población de estudio

*Candida albicans* aislada de paciente con candidiasis vulvovaginal del Hospital Regional de Trujillo y cultivada en el laboratorio de Microbiología de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de Trujillo. El material biológico de *Eucalyptus globulus* y *Origanum vulgare* ha sido depositado en el herbario Antenor Orrego (HAO) de la Universidad Privada Antenor Orrego con los códigos 20004 y 20005 respectivamente.

### Criterios de inclusión:

Placas Petri con Agar Sabouraud y *Candida albicans*, expuesto al efecto del aceite esencial de *Eucalyptus globulus*. Placas Petri con Agar Sabouraud y *Candida albicans*, expuesto al efecto del aceite esencial de *Origanum vulgare*.

### Criterios de eliminación:

Placas Petri con Agar Sabouraud y *Candida albicans*, expuesto al efecto del aceite esencial de *Eucalyptus globulus*, que sufra deterioro y/o contaminación durante la conservación y los procedimientos que no permita su medición posterior.

Placas Petri con Agar Sabouraud y *Candida albicans*, expuesto al efecto del aceite esencial de *Origanum vulgare*, que sufra deterioro y/o

contaminación durante la conservación y los procedimientos que no permita su medición posterior.

El presente es un estudio comparativo, transversal y experimental.

### Procedimientos y técnicas:

Para realizar el presente trabajo se obtuvo permiso de la Escuela de Medicina y de la Escuela de Farmacia de la Universidad Nacional de Trujillo; con el cual se tuvo acceso a los laboratorios de microbiología y farmacognosia de dicha institución; después se realizó el siguiente procedimiento:

**Recolección e identificación taxonómica de las plantas:** Los especímenes de *Eucalyptus globulus* y *Origanum vulgare* de origen peruano, fueron recolectados en Otuzco, que es distrito y provincia, al mismo tiempo, perteneciente a la región de La Libertad, situado a 2620 metros de altura sobre el nivel del mar. Para una precisa identificación taxonómica, los ejemplares de las especies en estudio fueron conducidas al Herbario Antenor Orrego (HAO) de la Universidad Privada Antenor Orrego.

**Obtención de los aceites esenciales de *Eucalyptus globulus* y *Origanum vulgare*:** Esto se realizó utilizando el método de "hidrodestilación"; en el cual se seleccionaron las hojas frescas de ambas plantas, sobre todo las que estuvieron en buenas condiciones, desechándose aquellas que estuvieron con hongos, decoloradas y maltratadas. Luego las hojas fueron lavadas con agua de caño y desinfectadas con hipoclorito de sodio al 0,5%. Consiguientemente se las enjuagó con bastante agua destilada estéril, con la cual se retiró los residuos de hipoclorito<sup>(35)</sup>.

Posteriormente, mediante el equipo de destilación, se sometió la muestra a una corriente de vapor de agua sobrecalentada, arrastrando la esencia que por acción del refrigerante, fue condensada. El destilado se separó tomando en cuenta sus propiedades de inmiscibilidad y diferencia de densidades entre el agua y el aceite esencial; para esto se utilizó una pera de separación de vidrio, deshidratándose las impurezas de agua en el aceite esencial con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>(sulfato de sodio)anhidro. Finalmente se filtró y se guardó en un frasco de vidrio color ámbar (para evitar la descomposición por la luz) y bajo refrigeración a una temperatura de 4°C.

#### Preparación de las diferentes concentraciones de los aceites esenciales:

Para ello se tuvo en cuenta lo siguiente:

Volumen de aceite	Volumen de Tween 80	Volumen Final	Concentración (%)
2.5 mL	7.5mL	10 mL	25
5.0 mL	5.0 mL	10 mL	50
7.5 mL	2.5 mL	10 mL	75
10 mL	-	10 mL	100

Los aceites esenciales fueron diluidos en Tween 80 al 25%, 50%, 75% y 100% (con sus equivalentes en mg/mL antes mencionados). A posteriori se colocaron cada una de las concentraciones en frascos de vidrio de color ámbar, para protegerlas de la luz, se puso a refrigerar a 4 °C hasta la realización del análisis microbiológico.

**Obtención del hongo:** *Candida albicans* se obtuvo de una paciente diagnosticada con vulvovaginitis atendida en los servicios de Ginecología del Hospital Regional Docente de Trujillo quien dio su consentimiento informado, por escrito. Se tomó la muestra de flujo vaginal con un hisopo de algodón de las paredes de la vagina o del fondo de saco; se colocó el hisopo en un tubo de ensayo que contenía 0,5 mL de solución salina, agitándolo para una adecuada distribución; luego se decantó una gota en una lámina portaobjeto, se procedió a realizar la visualización microscópica identificándose levaduras en gemación. Para una mejor identificación del hongo se mezcló, en otra lámina, una gota de la secreción del tubo de ensayo con una gota de KOH al 10%, evidenciándose en el microscopio la presencia de blastosporas y pseudohifas; se identificó a las levaduras del género *Cándida* mediante la prueba de los tubos germinales, procediéndose a recolectar la secreción vaginal en un tubo de ensayo estéril que contenía 0,5 mL de solución salina, para ser trasladado en seguida al laboratorio de Microbiología de la facultad de medicina de la Universidad Nacional de Trujillo.

**Preparación del inóculo:** Después de haber obtenido el hongo, este fue cultivado en tubos de ensayo con tapa rosca en medio agar Sabouraud, incubándose a 37°C. Luego fue diluido en caldo glucosado, con lo que se obtuvo una turbidez semejante al tubo número 0,5 de la escala de Mac Farland. Los tubos que contenían la muestra fueron girados entre las manos durante 30 segundos, con lo cual se distribuyó adecuadamente los microorganismos<sup>(36)</sup>.

**Determinación de actividad antifúngica:** Mediante el método de Kirby y Bauer modificado se determinó la actividad antifúngica midiendo la sensibilidad con 5 discos por placa.

**Sembrado:** Un hisopo estéril fue embebido con *Candida albicans* previamente cultivada en un tubo de ensayo, posteriormente, a una distancia de 10 cm de la llama del mechero se procedió al sembrado en cada placa Petri conteniendo Agar Sabouraud, hisopando uniformemente sobre toda la superficie del agar y girando cada placa 30 grados por 10 veces aproximadamente.

**Prueba de susceptibilidad:** Se utilizó el método de Kirby y Bauer o de difusión de discos, preparando discos de papel de filtro estériles, los mismos que fueron sumergidos dentro de 1mL de cada una de las concentraciones de los aceites; acto seguido, con una aguja estéril estos se colocaron sobre los cultivos de las placas petri recientemente sembradas. Finalmente las placas se incubaron a 37°C.

La lectura se llevó a cabo después de las 48 horas de iniciado el proceso. Se midieron los halos de inhibición (susceptibilidad) de cada una de las concentraciones, incluyendo el área del disco de papel filtro, con una regla milimetrada, y se comparó las medidas obtenidas con la escala de Duraffourd (escala utilizada para la determinación cualitativa del efecto inhibitorio in vitro, según diámetro de inhibición). Se usó como control positivo el fármaco Fluconazol.

**Concentración mínima inhibitoria (CMI):** Para determinarla se utilizó el método de dilución en tubos abreviado. Se prepararon cinco tubos de ensayo para cada microorganismo; cuatro con las concentraciones de 25% (2.5 mg/mL), 50% (5.0 mg/mL), 75% (7.5 mg/mL) y 100% (10 mg/mL); se añadieron 0.8 mL de cada concentración, en seguida se realizó la inoculación de 0.2 mL de *Candida albicans*; en el quinto tubo fue efectuado el control sin ningún tratamiento; en el mismo se agregó 1 mL de cultivo de *Candida albicans*. Inmediatamente los tubos fueron incubados a 37°C durante 24 horas.

Observándose la presencia o ausencia de turbidez<sup>(36)</sup>.

**Concentración mínima fungicida (CMF):** Para la determinación de la concentración mínima fungicida (CMF) de los aceites esenciales, se partió del proceso de macrodilución en caldo en base a la propuesta metodológica del Clinical & Laboratory Standards Institute (CLSI)<sup>(36)</sup>.

Todos los tubos con las concentraciones de ambos aceites esenciales y *Candida albicans* sin tratamiento fueron sembrados en placas con agar Sabouraud e incubadas por 24 horas a 37°C, posteriormente se contaron las unidades formadoras de colonias (UFC); la concentración de los aceites esenciales utilizados que no presentó UFC, fue considerado la CMF.

#### Técnicas e instrumentos de recolección de datos

La técnica de recolección de datos que se utilizó fue la observación y el instrumento fue una ficha de registro de datos.

#### Procesamiento y análisis estadístico

Los datos encontrados fueron plasmados en tablas estadísticas de resumen, las mismas que se obtuvieron mediante la observación y medición de los diámetros de los halos inhibitorios y del conteo de las UFC; también para una mejor visualización se utilizaron figuras estadísticas.

La comparación de los resultados obtenidos en la investigación se realizó mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov y Shapiro-Wilk, para determinar el nivel de normalidad de los resultados. Posteriormente se utilizó la prueba estadística no paramétrica de W de Wilcoxon, con las que se determinó las diferencias significativas entre pares de grupos, considerando significativo si  $p < 0.05$ .

Todos los datos fueron procesados utilizando el paquete estadístico IBM SPSS Statistics V 23.0 y Microsoft Office Excel 2013.

### Consideraciones éticas

Para la ejecución de la presente investigación, se respetó el punto número 11, según las recomendaciones establecidas en la declaración de Helsinki, adoptada por la 18ª Asamblea Médica Mundial en Helsinki, Finlandia, Junio 1964 y modificada por la Asamblea Médica Mundial en Tokio, enero 2004; en donde menciona que se reducirá al mínimo el posible daño al medio ambiente<sup>(37)</sup>.

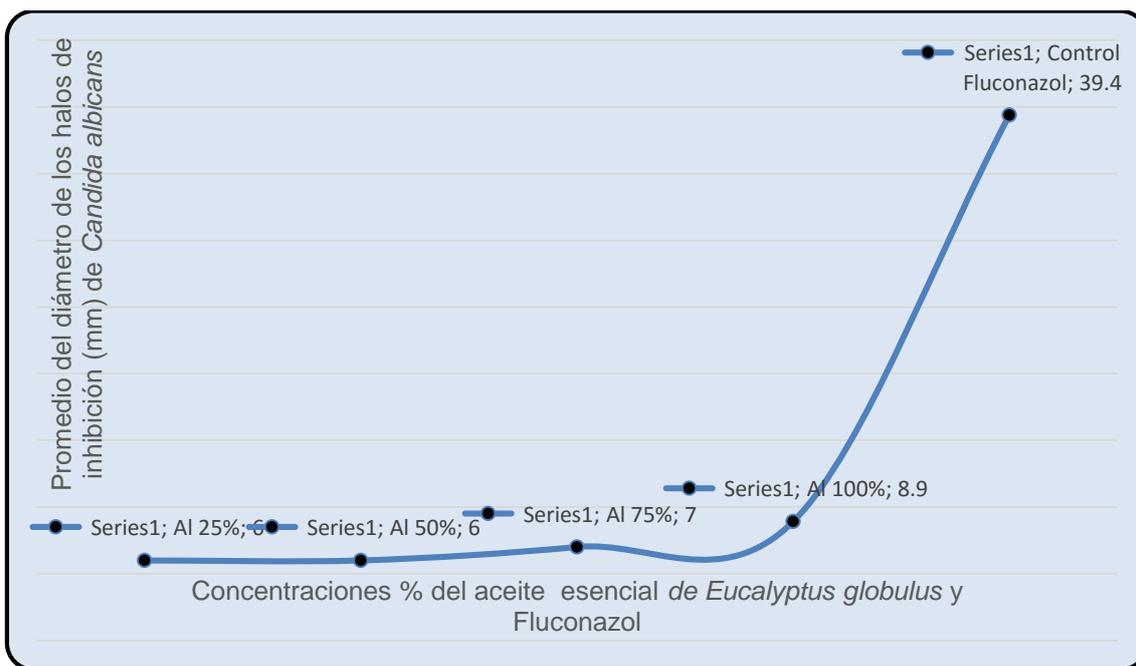
Se respetó el principio ético adoptado en el capítulo 6 del código de ética del Colegio Médico del Perú titulado: "Del trabajo de investigación", específicamente se tuvo en cuenta el 6 Art. 48º, donde habla de la veracidad en la publicación de los resultados obtenidos en el estudio. Así mismo, se tuvo en cuenta los principios de bioseguridad correspondiente a trabajos *in vitro*<sup>(38)</sup>. Este trabajo de investigación fue aprobado por el comité de bioética de la Universidad Privada Antenor Orrego con N° de resolución 332-2018-UPAO.

### RESULTADOS

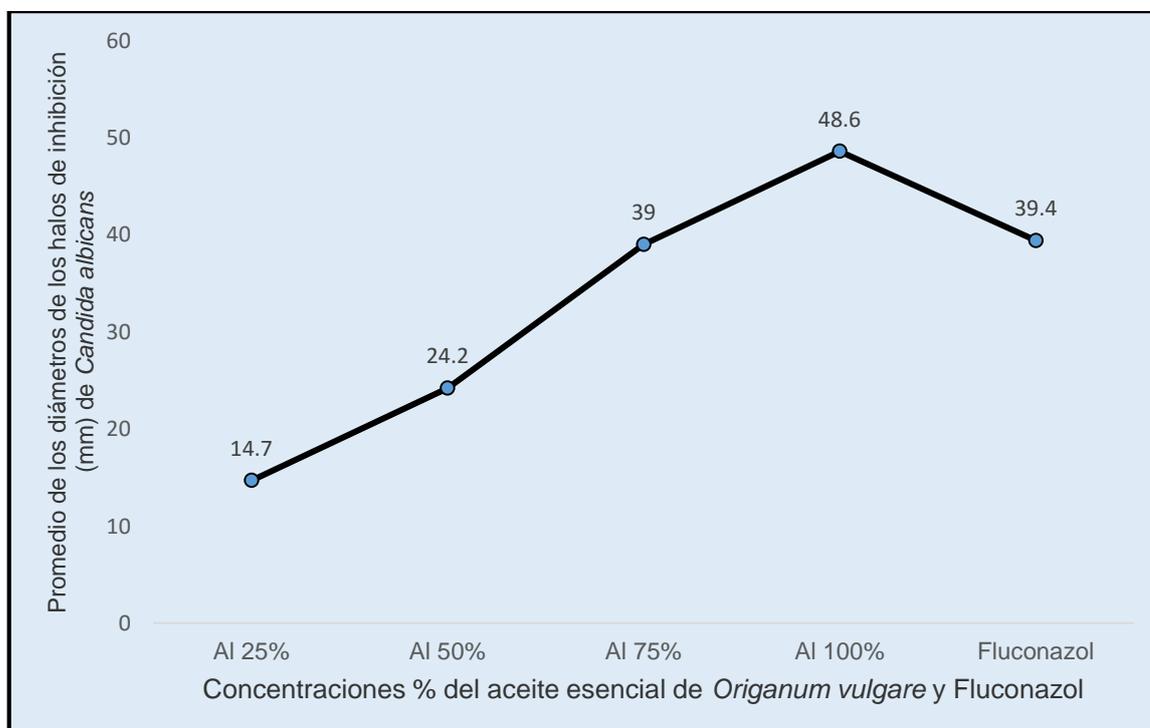
Luego de haber realizado el trabajo de investigación de tipo experimental *in vitro* con los aceites esenciales de *Eucalyptus globulus* y *Origanum vulgare* sobre *Candida albicans*, se observó que el aceite esencial de *Eucalyptus globulus* dependiente de su concentración no

inhibió el crecimiento de este hongo de manera significativa ya que el diámetro de sus halos de inhibición se encuentran entre 6 a 8.9 mm en comparación con el Fluconazol cuyo halo de inhibición fue de 39.4 mm demostrando que este último tuvo mayor efecto inhibitorio (figura 01). En cambio con el aceite esencial de *Origanum vulgare* se observó que las concentraciones del 75% y el 100% cuyos promedios de sus diámetros de sus halos de inhibición se encuentran entre 39 y 48.6 mm, resultados que se aproximan al efecto inhibitorio del Fluconazol (figura 02).

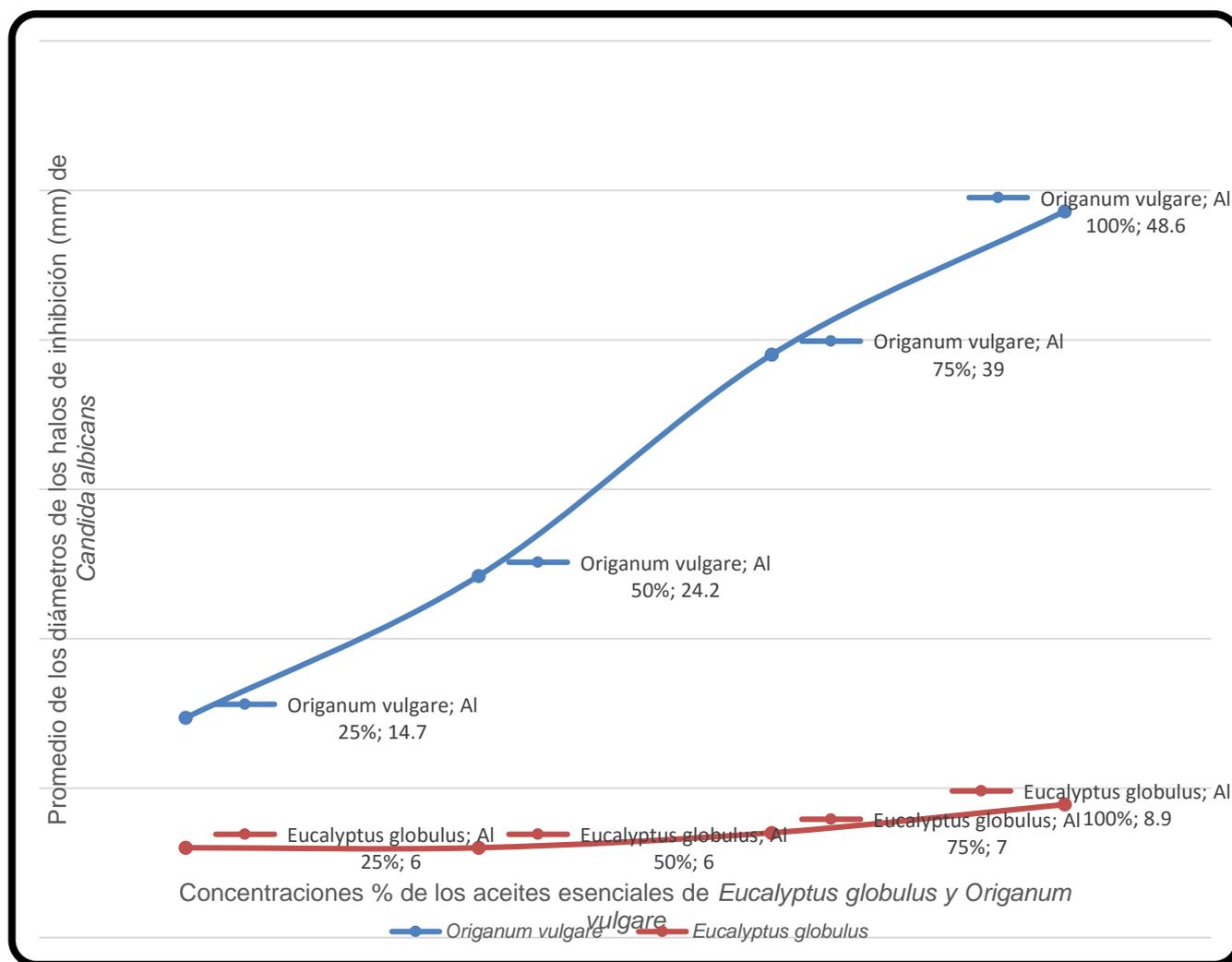
Comparando las medias del diámetro de los halos de inhibición en mm en función de las cuatro concentraciones de los aceites esenciales de *Eucalyptus globulus* y *Origanum vulgare* sobre el crecimiento de *Candida albicans* se observó que este último tuvo mayor efecto inhibitorio (14.7 – 48.6 mm) en relación con el primero que solamente alcanzó (6 – 8.9 mm). De acuerdo a la Escala de Duraffourd se demostró que el *Eucalyptus globulus* tuvo sensibilidad antifúngica nula con las concentraciones al 25%, 50% y 75% y una sensibilidad límite al 100% (8.9 mm) frente a *Candida albicans*; en cambio el *Origanum vulgare* presentó sensibilidad antifúngica muy sensible con la concentración al 25% (14,7 mm) y sumamente sensible con las concentraciones al 50% (24.2 mm), 75% (39 mm) y 100% (48.6 mm) las cuales demuestran que el aceite esencial de *Origanum vulgare* presentó mayor efecto inhibitorio que el aceite esencial de *Eucalyptus globulus* sobre el crecimiento *Candida albicans* (figura 03).



**Figura 01:** Media del diámetro de los halos de inhibición en mm en función de las cuatro concentraciones del aceite esencial de *Eucalyptus globulus* sobre *Candida albicans*



**Figura 02:** Media de los diámetros de los halos de inhibición en mm en función de las cuatro concentraciones del aceite esencial de *Origanum vulgare* sobre *Candida albicans*



**Figura 03:** Comparación de las medias de los diámetros de los halos de inhibición en mm en función de las cuatro concentraciones de los aceites esenciales de *Eucalyptus globulus* y *Origanum vulgare* sobre *Candida albicans*

Según la prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov y Shapiro-Wilk se tuvo un p valor de (.200) y (.792) respectivamente, las cuales son mayores al nivel de significancia (.05) nos indica que las pruebas paramétricas no deben utilizarse y por tanto se debe utilizar las pruebas no paramétricas (tabla 01)

A través de las prueba no paramétrica de W de Wilcoxon, se determinó que la diferencia de las medias de las concentraciones al 25%, 50%, 75% y 100% del aceite esencial de *Eucalyptus globulus* y del Fluconazol son significativas ya que el p valor fue de .0000 siendo menor que el nivel de

significancia ( $p < .0,05$ ). En cambio con las concentraciones al 75% y 100% del aceite esencial de *Origanum vulgare* y del Fluconazol el p valor es de .796 y .280 respectivamente, no observándose significancia ya que el p valor fue mayor que el nivel de significancia ( $p < .0,05$ ). Existiendo diferencia significativa entre los diámetros de los halos de inhibición entre el aceite esencial de *Eucalyptus globulus* y el aceite esencial del *Origanum vulgare* ya que el p valor en todas las concentraciones es de .0000 menor que el nivel de significancia ( $p < .0,05$ ) (tabla 02, 03 y 04).

Luego se contaron las unidades formadoras de colonias (UFC) en todos los ensayos; en donde se observó que solamente el aceite esencial de *Origanum vulgare* presentó capacidad inhibitoria

a partir de la concentración 75% (UFC = 0), el cual fue considerado como la concentración mínima fungicida (CMF) (figura 04, y 05 y tabla 05).

**Tabla 01:** Análisis de varianza para evaluar los bloques (diámetros de los halos inhibitorios) y los tratamientos (actividad inhibitoria de los aceites esenciales de *Eucalyptus globulus* y *Origanum vulgare* en las concentraciones al 25%, 50%, 75%, 100% con el control de Fluconazol) a través de la Prueba de Kolmogorov-Smirnov y Shapiro-Wilk.

Grupos		Kolmogorov-Smirnov <sup>b</sup>			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Concentración	Origanum	.133	10	,200*	.961	10	.792
	Fluconazol	.202	10	,200*	.878	10	.124

Fuente: Base de datos

**Tabla 02:** Prueba estadística no paramétrica de W de Wilcoxon de acuerdo al diámetro del halo inhibitorio en función de cuatro concentraciones de los aceites esenciales de *Eucalyptus globulus* y *Origanum vulgare* y control con Fluconazol.

	Concentración 25	Concentración 50	Concentración 75	Concentración 100
W de Wilcoxon	55.000	55.000	55.000	55.000
Z	-4.038	-4.047	-3.817	-3.807
Sig. asintótica (bilateral)	.000	.000	.000	.000
Significación exacta [2*(sig. unilateral)]	,000 <sup>b</sup>	,000 <sup>b</sup>	,000 <sup>b</sup>	,000 <sup>b</sup>

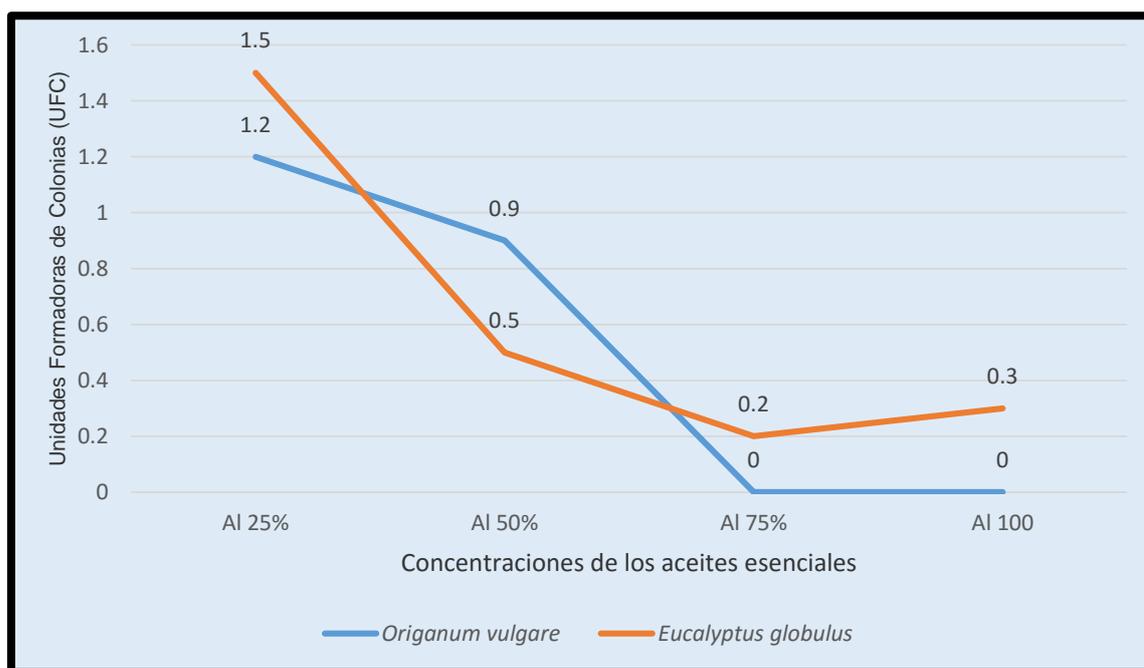
**Tabla 03:** Prueba estadística no paramétrica de W de Wilcoxon de acuerdo al diámetro de halo inhibitorio en función de cuatro concentraciones de los aceites esenciales de *Eucalyptus globulus* y control con Fluconazol.

	Concentración 25	Concentración 50	Concentración 75	Concentración 100
W de Wilcoxon	55.000	55.000	55.000	55.000
Z	-4.056	-4.056	-3.824	-3.820
Sig. asintótica (bilateral)	.000	.000	.000	.000
Significación exacta [2*(sig. unilateral)]	,000 <sup>b</sup>	,000 <sup>b</sup>	,000 <sup>b</sup>	,000 <sup>b</sup>

**Tabla 04:** Prueba estadística no paramétrica de W de Wilcoxon de acuerdo al diámetro de halo inhibitorio en función de cuatro concentraciones de los aceites esenciales de *Origanum vulgare* y control con Fluconazol.

	Concentración 25	Concentración 50	Concentración 75	Concentración 100
W de Wilcoxon	59.000	64.000	101.000	90.500
Z	-3.498	-3.135	-.309	-1.106
Sig. asintótica (bilateral)	.000	.002	.757	.269
Significación exacta [2*(sig. unilateral)]	,000 <sup>b</sup>	,001 <sup>b</sup>	,796 <sup>b</sup>	,280 <sup>b</sup>

Fuente: Base de datos



**Figura 04:** Comparación del Número de Unidades Formadoras de Colonias (UFC) de *Candida albicans* en función de las cuatro concentraciones de los aceites esenciales de *Eucalyptus globulus* y *Origanum vulgare*.

## DISCUSIÓN

El Perú es un país que posee una rica biodiversidad específicamente en flora que llama la atención a nivel mundial, ya que favorece y facilita la realización de diversos trabajos de investigación con fines terapéuticos. Sin embargo muchas de las plantas pasan desapercibidas por los investigadores y por ende no conocen a profundidad sus propiedades: fungicida, antimicrobiana entre otras, como es el caso del *Eucalyptus globulus* y el *Origanum vulgare*, de los cuales se pueden extraer aceites esenciales. En este estudio se observó que el aceite esencial de *Origanum vulgare*, presentó un mayor efecto fungicida que el Fluconazol frente a la *Candida albicans* con el aceite esencial puro sin diluir. Corroborándose con el trabajo realizado por Valverde PY, en donde menciona que el aceite esencial de orégano puro tiene un mejor efecto antimicótico frente a *Candida albicans* en comparación con el control positivo, que en este caso utilizó Nistatina<sup>(32)</sup>; en la investigación realizada por Quintanilla, se determinó también que el

extracto del aceite de orégano presentó un efecto fungicida *in vitro* frente a la *Candida albicans*<sup>(31)</sup>.

Según los resultados obtenidos en el experimento se pudo observar que los diámetros de los halos de inhibición de las concentraciones del aceite esencial de *Eucalyptus globulus* presentaron un efecto antifúngico mínimo frente a *Candida albicans* en comparación con los diámetros de los halos de inhibición de las concentraciones del aceite esencial de *Origanum vulgare* en donde se visualizó un mayor efecto antifúngico frente a *Candida albicans* sobre todo siendo sumamente sensible a partir de 50% de concentración; asimismo los resultados al 75% se asemejan a los del control con Fluconazol, e incluso cuando se utilizó el aceite esencial puro, resultó ser más efectivo que este fármaco; ya que de acuerdo a la prueba de W de Wilcoxon la media de los diámetros de los halos no es significativa entre el *Origanum vulgare* y el fluconazol, porque el p valor es (,796) y (,280) respectivamente, mayor al nivel de significancia (,05). Al comparar las medias del *Origanum vulgare* y el *Eucalyptus globulus* la diferencia de

las medias es significativa ya que el p valor es (<0,000) menor que el nivel de significancia (<0,05) entre todas las concentraciones.

En consecuencia se rechaza la hipótesis nula y se acepta a la alterna; es decir, que el aceite esencial de *Eucalyptus globulus* presenta menor efecto inhibitorio que el aceite esencial de *Origanum vulgare* sobre el crecimiento de *Candida albicans* aislada de paciente con candidiasis vulvovaginal. Esto se relaciona con el estudio de Alzamora L, Morales L, Fernández G, al considerar que el aceite esencial de *Eucalyptus globulus* tiene baja sensibilidad antifúngica frente a *Candida albicans* (29).

Es pertinente indicar que ambos aceites esenciales si presentaron una concentración mínima inhibitoria (CMI), siendo al 50% para el aceite esencial de *Eucalyptus globulus* y 25% para el aceite esencial de *Origanum vulgare*, en los cuales se observó ausencia de turbidez. Al realizar el sembrado en placas con agar Sabouraud de todos los tubos, se observó que con el aceite esencial de *Eucalyptus globulus* en todas las concentraciones crecieron algunas colonias, por ende no presentó una concentración mínima fungicida en comparación con el aceite esencial de *Origanum vulgare* que a partir de la concentración al 75% no se formaron UFC, considerándose esta como la concentración mínima fungicida (CMF). Resultados que difieren con los estudios realizados por Quintanilla, quien demostró la actividad antifúngica del carvacrol (extracto del aceite de orégano) sobre *Candida albicans* a una CMI y CMF de 100% de concentración (31).

Los resultados de la presente investigación abre nuevas oportunidades y alternativas para el tratamiento de enfermedades infectocontagiosas por métodos no convencionales, como el uso de plantas como posible tratamiento de candidiasis por *Candida albicans*, una alternativa podría ser el *Origanum vulgare*, el cual por el presente estudio se demostró su efecto fungicida. El presente estudio pretende apoyar a la innovación de nuevos fitofármacos alternativos para inhibir el

crecimiento de *Candida albicans* resistente a las terapias de primera línea.

El aceite esencial de *Eucalyptus globulus* presenta menor efecto inhibitorio que el aceite esencial de *Origanum vulgare* sobre el crecimiento de *Candida albicans* aislada de paciente con candidiasis vulvovaginal en condiciones *in vitro*. El aceite esencial de *Eucalyptus globulus* presentó menor efecto inhibitorio sobre el crecimiento de *Candida albicans* en comparación con el Fluconazol. El aceite esencial de *Origanum vulgare* a la concentración del 75% presentó un efecto inhibitorio similar al Fluconazol, mientras que al 100% se evidenció mayor efecto inhibitorio que el fármaco indicado, frente al crecimiento de *Candida albicans*. La concentración mínima inhibitoria (CMI) del aceite esencial de *Eucalyptus globulus* fue del 50% y del aceite esencial de *Origanum vulgare* fue del 25%. La concentración mínima fungicida (CMF) del aceite esencial de *Origanum vulgare* fue al 75% de concentración. El aceite esencial de *Eucalyptus globulus* no tuvo CMF.

Se recomienda realizar trabajos de investigación *in vitro* sobre el aceite esencial de *Origanum vulgare* por su efecto inhibitorio en el crecimiento de *Candida albicans* con concentraciones menores. Se debe realizar investigaciones de la efectividad antifúngica *in vivo* de los aceites esenciales de *Origanum vulgare* y *Eucalyptus globulus*. Así mismo, otros estudios para observar el efecto inhibitorio del *Origanum vulgare* sobre los dermatofitos.

Este estudio tuvo como limitación la no obtención de la CIM de los aceites esenciales de *Origanum vulgare* y *Eucalyptus globulus* por razones tecnológicas.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Pappas PG, Kauffman CA, Andes DR, Clancy CJ, Marr KA, Ostrosky-Zeichner L, et al. Clinical Practice Guideline for the Management of Candidiasis: 2016 Update by the Infectious Diseases Society of America. Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am. 15 de febrero de 2016;62(4):e1-50. DOI: 10.1093/cid/civ933.

2. Gonçalves B, Ferreira C, Alves CT, Henriques M, Azeredo J, Silva S. Vulvovaginal candidiasis: Epidemiology, microbiology and risk factors. *Crit Rev Microbiol*. Noviembre de 2016;42(6):905-27. DOI: 10.3109/1040841X.2015.1091805.
3. Llanes M, González O, Sánchez L, Fernández O. Prevalencia de *Trichomonas vaginalis*, *Candida albicans* y *Gardnerella vaginalis* en mujeres sin síntomas de vaginitis. *Medimay*. 10 de septiembre de 2014;20(2):164-74.
4. Bonyadpour B, Akbarzadeh M, Mohagheghzadeh AA. Characterization of *Candida* Species Isolated from cases of Vulvovaginitis in women referring to selected gynecological clinics. *J Midwifery Reprod Health*. Octubre de 2016;(4): 741-47. Disponible en: [http://jmrh.mums.ac.ir/article\\_7562.html](http://jmrh.mums.ac.ir/article_7562.html). DOI: 10.22038/jmrh.2016.7562.
5. Pérez O, Vásquez Y. Vaginitis y vaginosis bacteriana en mujeres en edad fértil y gestantes en un centro de salud de la provincia de Chiclayo. *Rev Científica Salud Vida Sipanense*. 2 de diciembre de 2016;3(2):37-42.
6. Fornari G, Aparecida V, Rodrigues R, Dominguez M, Lameira R, Ferrari C, et al. Susceptibility and molecular characterization of *Candida* species from patients with vulvovaginitis. *Braz J Microbiol*. 2 de marzo de 2016;47(2):373-80. DOI: 10.1016/j.bjm.2016.01.005.
7. Nurat AA, Babalola GO, Shittu MO, Tijani MA, Adekola SA. Detection and Epidemiology of Vulvovaginal Candidiasis among Asymptomatic Pregnant Women Attending a Tertiary Hospital in Ogbomoso, Nigeria. *Int J Biomed Res*. 30 de julio de 2015;6(7):518-23. DOI: <https://doi.org/10.7439/ijbr.v6i7.2242>.
8. Pineda J, Cortés AA, Uribarren T, Castañón LR. Candidosis vaginal: Revisión de la literatura y situación de México y otros países latinoamericanos. *Rev Méd Risaralda*. Enero de 2017;23(1):38-44.
9. Shan Y, Fan S, Liu X, Li J. Prevalence of *Candida albicans*-closely related yeasts, *Candida africana* and *Candida dubliniensis*, in vulvovaginal candidiasis. *Med Mycol*. 1 de agosto de 2014;52(6):636-40. DOI: <https://doi.org/10.1093/mmy/myu003>.
10. Pontón J, Quindós G. Mecanismos de resistencia a la terapéutica antifúngica. *Med Clínica*. 1 de enero de 2006;126:56-60. DOI: <https://doi.org/10.1157/13097528>.
11. Chin VK, Lee TY, Rusliza B, Chong PP. Dissecting *Candida albicans* Infection from the Perspective of *C. albicans* Virulence and Omics Approaches on Host-Pathogen Interaction: A Review. *Int J Mol Sci*. 18 de octubre de 2016;17(10). DOI: 10.3390/ijms17101643.
12. Cruz SM, Díaz P, Mazón GM, Arias D, Calderón MM, Herrera AS. Genoma de *Candida albicans* y resistencia a las drogas. *Rev Científica Salud Uninorte*. 27 de marzo de 2017;33(3). Disponible en: <http://rcientificas.uninorte.edu.co/index.php/salud/article/view/9629>.
13. Sardi JC, Scorzoni L, Bernardi T, Fusco AM, Mendes MJ. *Candida* species: current epidemiology, pathogenicity, biofilm formation, natural antifungal products and new therapeutic options. *J Med Microbiol*. enero de 2013;62(Pt 1):10-24. DOI: 10.1099/jmm.0.045054-0.
14. López K, Dzul KR, Lugo C, Arias JJ, Zavala JE. Mecanismos de resistencia antifúngica de los azoles en *Candida albicans*. Una revisión. *Rev Bioméd*. 15 de septiembre de 2016;27(3):127-36.
15. Ortigoza E, Arroyo DI. Susceptibilidad in vitro de las especies de *Candida* a los antifúngicos en el Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional de Occidente. *Med Interna México*. 2014;8.
16. Perurera M, Pérez Y, Fernández CM, Martínez G, Illnait MT. Susceptibilidad antifúngica de aislados vaginales de *Candida* spp. *Rev Cubana Med Trop*. 2016; 68 (3).
17. Miró MS, Rodríguez E, Vigezzi C, Icely PA, Gonzaga M, Riera FO, et al. Candidiasis vulvovaginal: una antigua enfermedad con nuevos desafíos. *Rev Iberoam Micol*. 2017;34:65-71. DOI: 10.1016/j.riam.2016.11.006.
18. Dhanasekaran D, Vinothini K, Latha S, Thajuddin N, Panneerselvam A. Human dental biofilm: Screening, characterization, in vitro biofilm formation and antifungal resistance of *Candida* spp. *Saudi J Dent Res*. 1 de enero de 2014;5(1):55-70. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ksujds.2013.10.001>.
19. Bassolé IH, Juliani HR. Essential oils in combination and their antimicrobial properties. *Mol Basel Switz*. 2 de abril de 2012;17(4):3989-4006. DOI: 10.3390/molecules17043989.
20. Méndez KA. Efecto sinérgico in vitro de aceites esenciales de *Eucalyptus globulus* y *Origanum vulgare* sobre *Escherichia coli* [Tesis de bachiller en medicina]. Trujillo-Perú: Universidad Nacional de Trujillo. 2016:57 pp. Disponible en: [http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/8097/M%C3%A9ndezC%C3%A9peda\\_K.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/8097/M%C3%A9ndezC%C3%A9peda_K.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
21. Moreno J, López G, Siche R. Modelación y optimización del proceso de extracción de aceite esencial de eucalipto (*Eucalyptus globulus*). *Scientia Agropecuaria*. 2010; 147-54. Disponible en: [https://sites.google.com/a/unitru.edu.pe/sci-agropecu/publicacion/scagropv1n2/scagrop01\\_147-154](https://sites.google.com/a/unitru.edu.pe/sci-agropecu/publicacion/scagropv1n2/scagrop01_147-154).
22. Reyes F, Palou E, López A. Vapores de aceites esenciales: alternativa de antimicrobianos naturales. *TSIA*. 2012: 29-39. Disponible en: <https://tsia.udlap.mx/vapores-de-aceites-esenciales-alternativa-de-antimicrobianos-naturales/>.
23. Sánchez CE. Efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* sobre *Staphylococcus aureus* meticilino resistente [Tesis de bachiller en medicina]. Trujillo-Perú: Universidad Privada Antenor Orrego. 17 de mayo de 2017:75 pp. Disponible en: <http://repositorio.upao.edu.pe/handle/upaorep/2646>.
24. Sebei K, Sakouhi F, Herchi W, Khouja ML, Boukhchina S. Chemical composition and antibacterial activities of seven *Eucalyptus* species essential oils leaves. *Biol Res*. 19 de enero de 2015;48(1):7. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4417289/>. DOI: 10.1186/0717-6287-48-7.
25. Vesga LC, Bueno Y, Stashenko E, Méndez SC. Efecto del aceite esencial de *Eucalyptus citriodora* sobre el metabolismo energético mitocondrial. *Rev Colomb Quím*. 1 de mayo de 2014;43(2):10-7. DOI: <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.quim.v43n2.53118>.
26. Mota V, Turrini RN, Poveda V. Antimicrobial activity of *Eucalyptus globulus* oil, xylitol and papain: a pilot study. *Rev Esc Enferm USP*. Abril de 2015;49(2):0216-20. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0080-623420150000200005>.
27. García E, Castro FF, Gutiérrez JA, García S. Revisión de la producción, composición fitoquímica y propiedades nutraceuticas del orégano mexicano, *Rev. Mex. Cienc. Agríc*. 1 de marzo - 30 de abril, 2012. Vol.3 Núm.2 p.339-353.
28. Villavicencio JE, Moromi H, Salcedo D, Pineda M, Pamos D, Zambrano LS, et al. Efecto Antimicótico in vitro de *Origanum vulgare* sobre cepas de *Candida albicans*. *Odontol Sanmarquina*.

29 de enero de 2017;19(2):5-8. DOI:

<http://dx.doi.org/10.15381/os.v19i2.12907>.

29. Alzamora L, Morales L, Armas L, Fernández G. Medicina Tradicional en el Perú: Actividad Antimicrobiana in vitro de los Aceites Esenciales Extraídos de Algunas Plantas Aromáticas. An Fac Med. 7 de abril de 2014;62(2):156-61.

30. Rodríguez B, Santa L. Eficacia antifúngica in vitro de Uncaria tomentosa frente a Eucalyptus globulus sobre Candida sp. [Tesis de bachiller]. Trujillo-Perú: Universidad Privada Antenor Orrego. 2016:46 pp.

31. Quintanilla JJ. Efecto antibacteriano in vitro del carvacrol (aceite de orégano) sobre Candida albicans. Revista de Investigación de la Universidad Norbert Wiener. 2016;6.

32. Valverde PY. Efectividad antimicótica del aceite esencial de orégano de las provincias de Chimborazo y Santa Elena al 100% de concentración sobre Candida albicans [Tesis de bachiller]. Quito-Ecuador: Universidad Central del Ecuador. 2017: 90 pp. Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/9882>.

33. Carranza C, Nelly C. Efecto Inhibitorio In Vitro De Myrciaria Dubia "Camu-Camu" Sobre Staphylococcus Aureus Y Candida Albicans [Tesis de bachiller en medicina]. Trujillo-Perú: Universidad Nacional de Trujillo. 2013:70 pp. Disponible en: <http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/232>.

34. Ramirez LS, Marin D. Metodologías para evaluar in vitro la actividad antibacteriana de compuestos de origen vegetal. Scientia et Technica. 2009; 15(42): 263-68. Disponible en: [http://www.academia.edu/28313103/METODOLOGIAS\\_PARA\\_EVALUAR\\_IN\\_VITRO\\_LA\\_ACTIVIDAD\\_ANTIBACTERIANA\\_DE\\_COMPUUESTOS\\_DE\\_ORIGEN\\_VEGETAL](http://www.academia.edu/28313103/METODOLOGIAS_PARA_EVALUAR_IN_VITRO_LA_ACTIVIDAD_ANTIBACTERIANA_DE_COMPUUESTOS_DE_ORIGEN_VEGETAL).

35. Ayala J, Montero G, Campbell H, Sagaste C, León J, Coronado M, García C, Vázquez A. Modelado para la extracción de aceites esenciales, con limoneno y 1,8-cineol como productos refinados. Acad Mex Inves y Doc Ing Quim. 8 de Mayo del 2015. Disponible en: <https://www.researchgate.net/publication/282329258>

36. Patel JB, Cockerill FR, Bradford PA, Eliopoulos GM, Hindler JA, Jenkins SG, et al. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: twenty-fifth informational supplement. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2015.

37. Asamblea Médica Mundial. Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial: Principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos [Internet]. Octubre de 2013. Disponible en:

38. Mendoza A. Ética y medicina: la experiencia del colegio médico del Perú. Rev Peru Med Exp Salud Pública. Diciembre de 2011;28:670-5.

Citar como: Durango-Chávez OK, Mejía-Delgado. EM. Comparación del efecto in vitro de los aceites esenciales de Eucalyptus globulus y Origanum vulgare sobre Candida albicans aislada de paciente con candidiasis vulvovaginal. Rev méd Trujillo 2020;15(1):11-25