



**UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO**

**FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS  
ESCUELA ACADÉMICO  
PROFESIONAL DE MEDICINA**

**ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA IN VITRO DEL EXTRACTO ETANÓLICO  
DE SEMILLA DE *CITRUS PARADISI* “TORONJA” SOBRE CANDIDA  
ALBICANS ATCC 10231 COMPARADO CON CLOTRIMAZOL.**

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO  
PROFESIONAL DE MEDICO CIRUJANO**

**AUTORA:  
SOLEDAD ALBORNOZ SHERLY AUDREY**

**ASESORA:  
DRA. EVELYN DEL SOCORRO GOICOCHEA RIOS**

**LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:  
ENFERMEDADES INFECCIOSAS Y TRANSMISIBLES**

Trujillo – Perú

2018

## **DEDICATORIA**

A Dios por su infinito amor y su misericordia cada día.

A mi padre Mario por cuidarme desde el cielo

A mi madre Rocio por darme la vida, en especial por sus oraciones, su lucha y ser  
mi apoyo constante.

A mi esposo por estar a mi lado y su apoyo.

A mis hijas y mis hermanos porque son ellos mi motor y motivo.

A mi hermana Carmen por sus oraciones.

## **AGRADECIMIENTOS**

A mi familia, por su apoyo constante y sus palabras de aliento.

A mi asesora Dra. Evelyn Goicochea Ríos, por su dedicación y aporte en la realización de la tesis.

A Lucia Bardales, docente de estadística, por su paciencia y ayuda brindada en la elaboración de la parte estadística y metodológica de la tesis.

## **PRESENTACION**

Señores miembros del jurado:

Para el cumplimiento de las disposiciones legales y vigentes del Reglamento de Grados y Títulos de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad César Vallejo- Trujillo, presento ante ustedes la tesis titulada " ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA IN VITRO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE SEMILLA DE *CITRUS PARADISI* "TORONJA" SOBRE *CANDIDA ALBICANS* ATCC 10231 COMPARADO CON CLOTRIMAZOL" que tiene como objetivo determinar la actividad antifúngica in vitro del extracto etanólico de semilla de *Citrus paradisi* sobre *C. albicans* comparado con clotrimazol, esperando cumplir con todos los requisitos de aprobación para obtener el título de bachiller en medicina.

La autora

## INDICE

	Pág.
Página del jurado.....	ii
Dedicatoria .....	iii
Agradecimiento .....	iv
Declaratoria de autenticidad .....	v
Presentación .....	vi
Índice .....	vii
<b>RESUMEN</b> .....	ix
<b>ABSTRACT</b> .....	x
<b>I. INTRODUCCIÓN</b> .....	1
<b>II. MÉTODO</b> .....	6
<b>III RESULTADOS</b> .....	11
<b>IV. DISCUSIÓN</b> .....	13
<b>V. CONCLUSIONES</b> .....	14
<b>VI. RECOMENDACIONES</b> .....	14
<b>VII. REFERENCIAS</b> .....	15
<b>VIII. ANEXOS</b> .....	18

## RESUMEN

Se realizó una investigación experimental en el laboratorio de microbiología de la Facultad de Ciencias Médicas – UCV para determinar si el extracto etanólico de semilla de *Citrus paradisi* tiene actividad antifúngica sobre *Candida albicans* ATCC 10231, comparado con clotrimazol. Dicho extracto se obtendrá de las semillas del fruto de toronja y se procedió a analizarlas realizando 8 repeticiones de extracto etanólico de *Citrus paradisi* en diferentes concentraciones (al 100%, al 75%, 50% y 25%) contra una cepa de *C. albicans*. Además, se realiza la siembra de la cepa de *Cándida albicans* en placas Petri con agar glucosado Sabouraud en el laboratorio.

El análisis estadístico se realizó con el programa SPSS versión 25; también se procedió a determinar la normalidad (prueba de Shapiro- Wilk) y la homogeneidad de varianzas (prueba de Duncan)

Los resultados son que concentraciones al 75% presentó un halo de inhibición de 16.75 mm y 100% alcanzo halo de inhibición de 20 mm. Se determina la actividad antifúngica del extracto etanólico de *Citrus* sobre cepa de *C. albicans*.

**PALABRAS CLAVE:** Actividad antifúngica, *Candida albicans*, *Citrus paradisi*, clotrimazol.

## ABSTRACT

An experimental research was carried out in the microbiology laboratory of the Faculty of Medical Sciences - UCV to determine if the ethanol extract of *Citrus paradisi* seed has antifungal activity on *Candida albicans* ATCC 10231, compared with clotrimazol. This extract will be obtained from the seeds of the grapefruit fruit and analyzed by performing 8 repetitions of ethanol extract of *Citrus paradisi* in different concentrations (100%, 75%, 50% and 25%) against a strain of *C. albicans*. In addition, the strain of *Candida albicans* is planted in Petri dishes with Sabouraud glycoside agar in the laboratory.

The statistical analysis was performed with the SPSS program version 25; We also proceeded to determine normality (shapiro-wilk test) and homogeneity of variances (Duncan test).

The results are that concentrations at 75% presented a halo of inhibition of 16.75 mm and 100% reach inhibition halo of 20 mm. The antifungal activity of the ethanol extract of *Citrus* on *C. albicans* strain is determined.

**KEYWORDS:** Antifungal activity, *Candida albicans*, *Citrus paradisi*, Clotrimazol

## I. INTRODUCCIÓN:

### 1.1. Realidad Problemática

En la actualidad, se ha descrito que la resistencia a *Candida* a los antimicóticos se debe a la resistencia de levaduras, la aparición de especies patógenas, la automedicación irracional de antimicóticos como profilaxis y la dosis excesiva terapéutica.

Las irritaciones debidas a *Candida albicans* se producen en todas las zonas húmedas del cuerpo, y en especial en las partes genitales. En mundo se evidencia que millones de personas sufren infecciones debidas a este tipo de levadura u hongo microscópico. El 75% de las mujeres resultan afectadas al menos una vez y casi el 45% tendrá dos o más crisis por año.

Se desconoce la incidencia real de este fenómeno y por las razones hasta aquí expuestas es necesario plantear estudios con mayor fortaleza metodológica para encontrar asociaciones que permitan inferir factores de riesgo de esta seria infección micótica. Es claro, que se debe contar con estudios que involucren poblaciones con diferentes condiciones médicas y fortalecer los programas de vigilancia antimicótica para permitirnos llegar a conclusiones más cercanas a la realidad.

### 1.2. Trabajos Previos

Sharma M, Sharma S.<sup>3</sup> (India, 2010) estudió las capacidades antimicrobianas de una mezcla preparada del extracto de *Citrus paradisi* contra *E. coli*, *S. aureus* y *C. albicans* a través de un procedimiento denominado difusión en pozo. El extracto obtenido de *Citrus paradisi* fue aplicado hasta obtener concentraciones del 5, 10, 20, 50, 100, 200, 400 mg/mL. Las placas de agar fueron sembradas con 0,5 mL de cada hongo y bacteria; con un sacabocado de 6 mm de diámetro se elaboraron pequeños pozos para luego introducir 100 µl de cada solución; luego se colocaron a 37°C durante 24 horas. El extracto líquido de *Citrus paradisi* al 5, 10, 20, 50, 100, 200 y 400 % desarrolló halos de inhibición de 15, 17, 19, 21, 18, 24 y 19 mm respectivamente sobre la cepa de *C. albicans*. El fitoquímico del extracto observó la presencia de alcaloides, flavonoides, taninos, saponinas, esteroides y glucósidos.

Cvetnic Z, Vladimir R, Knezevic S.<sup>4</sup> (Croacia, 2004), realizaron un estudio donde se evaluó el efecto antibacteriano y antimicótico del extracto etanólico del *Citrus paradisi* frente a 10 cepas de levadura y 20 cepas de bacterias. El nivel de los efectos antimicrobianos se estableció utilizando un ensayo de agar in vitro y una prueba de sensibilidad a la dilución estándar del caldo. El extracto etanólico estaba conformado de 3.92% de polifenoles y 0.11% de flavonoides; además naringina y hesperidina. El extracto etanólico tuvo el efecto antimicrobiano más alto contra *Salmonella enteritidis*.

Harich J.<sup>5</sup> (Estados Unidos de América, 1995), a través de su estudio sobre el extracto de *Citrus paradisi*; dio a conocer el efecto antimicrobiano contra diversos tipos de microorganismos como hongos que se encontraron en los distintos utensilios de acero inoxidable. Todos los gérmenes y hongos examinados fueron erradicados entre 1 y 2 horas a 10.000 ppm. El estudio logró una eficacia semejante en materiales contaminados con sangre donde había bacterias y hongos.

Giannuzzi L, Zaritzky N.<sup>6</sup> (Argentina, 1993); determinaron en su estudio que el ácido ascórbico y el ácido cítrico son compuestos que están en el extracto de semilla de *Citrus paradisi* y que adheridos por separado o juntos, evidenciaron un gran efecto antimicrobiano contra diversos microorganismos en un homogenizado de papas, incluyendo *Enterobacteriaceae*, *Lactobacillus spp*, *Pseudomonas spp*, esporas aerobias, hongos y anaerobias; levaduras, *Clostridium* y bacterias psicotrópicas.

Ionescu G, et al<sup>7</sup> (Estados Unidos de América, 1990); estudiaron la eficacia del extracto de *Citrus paradisi* frente a 93 cepas fúngicas y 194 bacterias. Observaron que a la concentración de 0.5% impide el desarrollo de todos los microbios, a excepción de *Pseudomona* y *Klebsiella*. El estudio incluyó a bacterias Gram positivas, Gram negativas, levaduras y mohos. A concentraciones de 1-2% del extracto se logró inhibir a *Klebsiella* y *Proteus spp*.

### **1.3. Teorías Relacionadas Al Tema**

Las especies del género *Candida* son hongos unicelulares, siendo el principal representante es *Candida albicans* (*C. albicans*), que se encuentra en la mayoría de las personas como microorganismo comensal; se halla en la piel, colón, estómago, vagina, recto además de la boca.<sup>8</sup>



La *C. albicans* es la principal causante de las infecciones micóticas oportunistas en el ser humano. Es considerado un hongo dimórfico, que se desenvuelve de una manera distinta en relación con la temperatura en la que se encuentre, actúa como levadura a una temperatura de 37 °C en el huésped y como hongo a 2 °C sobre todo en la naturaleza. Se encuentra dentro del *phylum Ascomycota* y se reproduce de forma asexual por gemación. La *C. albicans* como levadura; se presenta de aspecto redondo y ovalado de 3-8 x 2-7 micras de tamaño, en grupos pequeños; por otro lado, en aspecto de hongo, las células son alargadas y tiene apariencia de filamentos, pseudohifas o pseudomicelio.<sup>9</sup>

*C. albicans* y su capacidad del dimorfismo, le facilita evitar el mecanismo de defensa relacionado con la capacidad inmunológica del huésped; es así que en su estado de levadura puede actuar como ente saprofito cohabitando de manera simbiótica con el comensal; en tanto que su forma antifúngica actúa como patógeno produciendo síntomas en el comensal. Su principal hábitat son las zonas húmedas y oscuras del huésped.<sup>9</sup>

La candidiasis es una enfermedad de distribución amplia y alrededor del 70% es ocasionado por *C. albicans*, siendo el serotipo B el de mayor porcentaje encontrado. La candidiasis está muy vinculada a personas con graves alteraciones inmunológicas. Normalmente *C. krusei* y *C. glabrata* son casi completamente resistentes a los compuestos azólicos y su hallazgo como agentes causantes de patologías sistémicas intrahospitalarias se ha elevado en los últimos años.<sup>10</sup>

La *C. albicans* tiene como principal hospedador al ser humano; puede sobrevivir fuera del huésped normalmente en zonas oscuras y húmedas; el principal mecanismo de transmisión y propagación es principalmente por contacto de piel y mucosas infectadas.<sup>9</sup>

La candidiasis o monoliasis es una infección del tipo micótica causada por diversas especies de *Candida*. Existen alrededor de 17 especies patógenas de *Candida*; el 90% de las patologías se cree son causadas por *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. parasilopsis*, *C. krusei*, y *C. tropicalis*. Cualquier tejido puede ser afectado; siendo principalmente la piel (intertrigo), las mucosas (oral, genitourinario y digestivo) y las uñas las zonas de mayor predilección.<sup>10</sup>

Las candidiasis superficiales son fáciles de manejar y no ocasionan la muerte, sin embargo, cuando se trata de una patología sistémica, ya sea de evolución aguda o crónica, son extremadamente peligrosas. Gran parte de estas patologías sistémicas se desarrollan a partir de un foco endógeno; pero no debe eliminarse la participación de fuentes externas.<sup>11</sup>

La aparición de la candidiasis está muy relacionada con la presencia de algunos factores predisponentes como patogenicidad del hongo y la capacidad del sistema inmunológico del huésped. La sintomatología y la gravedad de la infección se relacionan principalmente con el grado de afectación de la defensa inmunológica del huésped.<sup>12</sup>

Las causas predisponentes se agrupan en: locales, fisiológicas, endocrinas además de alteración de la flora normal; enfermedades hematológicas, factores iatrogénicos: uso de corticoides, quimioterápicos, cirugía abdominal, enfermedades debilitantes: tuberculosis, quemaduras, infección por VIH.<sup>10</sup>

La patogénesis de la candidiasis se debe a la colonización secundaria a la administración de antibióticos, exceso de humedad en la piel, alteración de la flora intestinal que induce en las levaduras adherencia al mismo, cambios en la expresión de fenotipo del hongo que favorece la producción de proteinasas y fosfolipasas. En una persona con VIH esta invasión es limitada por macrófagos y polimorfonucleares; no obstante, en paciente neutropénico al fracasar la respuesta celular innata, el hongo invade y se disemina al torrente sanguíneo.<sup>13</sup>

Candida es el principal causante de infección micótica oportunista en el ser humano. Las manifestaciones clínicas causada por esta especie son: cutánea (grandes y pequeños pliegues, onixis blastomicética, granuloma candidiásico), mucocutánea (muguet, glositis, vaginitis, esofagitis, endocarditis, pielonefritis) candidiasis invasivas y algunas otras manifestaciones. Las ayudas diagnósticas son: muestras (escamas de piel y fanera, hisopado de mucosa, hemocultivo, esputo), examen directo de material (fresco y por tinción), cultivo, identificación de género y especie y pruebas complementarias. El manejo para vulvovaginitis por candida o candidiasis oral el tratamiento adecuado es antifúngico como clotrimazol o fluconazol.<sup>14</sup>

El clotrimazol al igual que otros antimicóticos azólicos altera la membrana de los hongos sensibles e inhibe la síntesis del ergosterol al intercambiar con la 14 alfa metilasa, una

enzima del CYP p450 útil para convertir el lanosterol en ergosterol. Su acción del clotrimazol es diferente a la anfotericina B que se liga al ergosterol después de ser sintetizado. Por lo contrario, la ausencia del lanosterol en la membrana incrementa la permeabilidad de la célula originando la pérdida de componentes indispensables como el potasio y fosfatos que se liberan a través de las fisuras en la membrana celular. Tiene efecto inhibitorio de la respiración endógena o la interacción de los fosfolípidos en la membrana lo que impide la conversión de los hongos a micelios. Además, tiene una gran eficacia sobre organismos como *Aspergillus fumigatus*, *Candida albicans*, *Cephalosporium*, *Cryptococcus*, *Trychophyton rubrum*, *T. mentagrophytes*, etc.<sup>15</sup>

La acción principal del clotrimazol es actuar como antifúngico, sin embargo, puede presentar efectos secundarios como: prurito, vaginitis, sensación de quemazón, cistitis. Rara vez puede provocar trastornos gastrointestinales, anemia y ginecomastia, porque alteran algunas vías del citocromo p450, que interfiere en la síntesis de testosterona.<sup>15</sup>

La absorción del clotrimazol es mínima luego de la aplicación de la piel intacta; cuando se aplica a nivel vaginal la absorción es hasta del 10%. Se ha descrito que las concentraciones fungicidas permanecen hasta por 3 días luego de su aplicación a nivel de vagina. Clotrimazol es metabolizada a nivel hepático, no cruza la barrera hematoencefálica. Su distribución es por todo el organismo y su eliminación es a través de la orina.<sup>16</sup>

Sus principales indicaciones son las micosis cutáneas, micosis de uñas, micosis de cuero cabelludo, vulvovaginitis, muguet oral, balanitis por candida, entre otros.<sup>16</sup>

La medicina tradicional ha cobrado en los últimas 2 décadas gran influencia en el tratamiento de enfermedades. El Perú cuenta con una flora muy variada en especies, que favorece el desarrollo de la medicina tradicional. Se ha estudiado muchas plantas y frutos con propiedades terapéuticas y muchos otros aún no han sido investigados como *Citrus paradisi*. Según la clasificación taxonómica pertenece a la clase magnoliopsida, familia rutaceae, del género *Citrus* y especie *Citrus paradisi* en nombre vulgar llamado “toronja”. Es un árbol que se caracteriza por su tronco corto, copa compacta y un color púrpura de escasas espinas; de hojas medianas además son vellosas y se identifica por su olor típico. Además de flores grandes y color verdoso; su fruto es redondeado, de un color amarillento claro y con un diámetro aproximado de 20 cm. La toronja llegó al Perú en el siglo XVI,

procedente de la península ibérica, iniciándose su cultivo en el Valle del Rímac y los valles del norte del Perú.<sup>17</sup>

El extracto de semilla de toronja (*Citrus paradisi*) preparado a base de la simiente, la pulpa y las membranas blancas de pomelo, posee actividad antibacteriana, antimicótico, fungicida, antiinflamatorias, antioxidante y muy útil en la prevención de cáncer, regeneración celular, lupus, artritis reumatoide y pérdida de peso. En especial actúa contra hongos y levaduras como: *Candida albicans*, *aspergillus niger*, *aspergillus flavis* y *fumigatus*, *monilia albicans*, *trichophytum rubrum*. Cabe destacar sus resultados efectivos contra *Helicobacter pylori* responsable de úlceras gástricas y en los tratamientos de las Candidiasis.<sup>18</sup>

Las semillas para preparar el extracto de pomelo son las del *Citrus paradisi*. Dicho extracto es una mixtura de sustancias naturales entre los que encontramos: bioflavonoides, oligosacáridos, aminoácidos, tocoferoles, ácido benzoico y ascórbico u otros. Se ha evidenciado su capacidad in vitro para inhibir el crecimiento o lisis de bacteria, hongos, virus y parásitos protozoarios; su efectividad es tanto in vitro como en vivo, además es compatible con otros tratamientos naturales y en muchos casos produce sinergia con otros productos potenciando el efecto de ambos. El *Citrus paradisi* puede ser usado en extracto como uso: tópico (aftas, estomatitis ulcerosas, herpes labial, afecciones de la garganta, infecciones por hongos, tricomonias vaginal), uso interno (proceso inflamatorio, inmune, problemas gastrointestinales, enfermedades respiratorias). Se ha evidenciado efectividad en el tratamiento de la candidiasis ingiriendo 20 gotas del extracto de *Citrus paradisi* tres veces al día, así como en tiñas, aplicando de forma interna como externa.<sup>19</sup>

Las infecciones vaginales son ocasionadas por gérmenes, mohos y levaduras. Antes de proceder al manejo con el extracto de *Citrus paradisi* se debe realizar el diagnóstico diferencial con infecciones de transmisión sexual. Una de las aplicaciones se da a través del lavado vaginal que se lleva a cabo colocando 16 gotas de extracto de semilla de pomelo en 50 ml de agua hervida o destilada, se agita bien la mezcla y se procede a lavar la vagina una vez al día por 3 días.<sup>18</sup>

Si la infección ocasionada por *C. albicans* es crónica, la administración de extracto de *Citrus paradisi* debe seguir una dieta depurativa durante 7 días. Se debe limitar la ingesta

de almidón; además de suprimir el uso de cigarros y alcohol.19 cirrosis hepática tiene una alta prevalencia en el mundo, así como una alta tasa de mortalidad <sup>2</sup>. De tal forma en el Perú, se encuentra dentro de las primeras causas de muerte si hablamos de enfermedades digestivas, y es la primera dentro de las hepatopatías <sup>3</sup>.

#### 1.4. Formulación al Problema

¿El extracto etanólico de semilla del *Citrus paradisi* tiene actividad antifúngica in vitro sobre cepa de *Candida albicans* comparado con clotrimazol?

#### 1.5. Justificación del Estudio

Encontramos muchas plantas que son utilizadas en medicina alternativa sin embargo no todas tienen un aval científico, por ello se insta a determinar la acción antifúngica de la semilla de pomelo contra la cepa de *C. albicans*, comparando el simple extracto acuoso con clotrimazol, considerando que la obtención de este extracto es más económica, sencilla y rápida de conseguir.

El *Citrus paradisi* no posee efectos adversos, además se tendrá un aporte sustancial, todo ello permitirá contar con información para que las instituciones o interesados en el tema, dirijan sus decisiones hacia la mejora de la atención en el paciente.

#### 1.6. Hipótesis

H<sub>1</sub>: El extracto etanólico de semilla del *Citrus paradisi* “toronja” tiene actividad antifúngica in vitro sobre cepa de *Candida albicans* ATCC 10231 comparado con clotrimazol

H<sub>0</sub>: El extracto etanólico de semilla del *Citrus paradisi* “toronja” no tiene actividad antifúngica in vitro sobre cepa de *Candida albicans* ATCC 10231 comparado con clotrimazol.

#### 1.7. Objetivos

General:

- Determinar la actividad antifúngica in vitro del extracto etanólico de semilla de *Citrus paradisi* sobre *C. albicans* ATCC 10231, comparado con clotrimazol.

Específicos:

- Estimar la actividad antifúngica del extracto etanólico de semilla del *Citrus paradisi* “toronja” sobre cepas de *C. albicans* ATCC 10231, en un estudio in vitro.
- Evaluar el efecto antifúngico del clotrimazol en cepas de *C. albicans* ATCC 10231, en un estudio in vitro.
- Comparar la actividad antifúngica del extracto etanólico de semilla de *Citrus paradisi* “toronja” y del clotrimazol, sobre cepas de *C. albicans* ATCC 10231.

## II. METODO:

2.1. Diseño de Investigación: Experimental puro.

RG1	X1	O1
RG2	X2	O2
RG3	X3	O3
RG4	X4	O4
RG5	X5	O5

Donde:

G1: Grupo aleatorio de cepas de *Candida albicans* expuestas a X1

G2: Grupo aleatorio de cepas de *Candida albicans* expuestas a X2

G3: Grupo aleatorio de cepas de *Candida albicans* expuestas a X3

G4: Grupo aleatorio de cepas de *Candida albicans* expuestas a X4

G5: Grupo aleatorio de cepas de *Candida albicans* expuestas a X5

G6: Grupo aleatorio de cepas de *Candida albicans* expuestas a X6

X1: Extracto etanólico de semilla de *Citrus paradisi* al 100%

X2: Extracto etanólico de semilla de Citrus paradisi al 75%

X3: Extracto etanólico de semilla de Citrus paradisi al 50%

X4: Extracto etanólico de semilla de Citrus paradisi al 25%

X5: Control positivo (Clotrimazol)

X6: Control negativo (Suero fisiológico)

O1: Observación de la actividad antimicótica de X1

O2: Observación de la actividad antimicótica de X2

O3: Observación de la actividad antimicótica de X3

O4: Observación de la actividad antimicótica de X4

O5: Observación de la actividad antimicótica de X5

O6: Observación de la actividad antimicótica de X6

## 2.2. Variables y Operacionalización

Variable Independiente: Agente antimicótico

a) No farmacológico: Extracto etanólico de semilla del Citrus paradisi “toronja”.

b) Farmacológico: Clotrimazol

Variable Dependiente: Actividad antimicótica (Halo de inhibición del crecimiento de cepas de Candida albicans ATCC 10231 in vitro).

## OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

Variable	Definición Conceptual	Definición Operacional	Indicadores	Escala De Medición
V.I: Agente antimicótico	Sustancia que inhibe el crecimiento o provoca la destrucción de los hongos. <sup>20</sup>	La población será dividida 05 grupos que serán expuestos a tratamiento: No farmacológico: 1: Extracto al 100% 2: Extracto al 75% 3: Extracto al 50% 4: Extracto al 25% 5: Control positivo 6: Control negativo	G1 G2 G3 G4 G5 G6	Cualitativa nominal
V. D: Actividad antifúngica	Es el resultado que se obtiene tras la aplicación de una sustancia sobre la capacidad de crecimiento de los hongos. <sup>20</sup>	Para medir la actividad antimicótica se considerará el estándar a través del halo de inhibición. Resistente: ≤ 16 mm Intermedio: 17 – 21 mm Sensible: ≥ 22 mm	Halo promedio	Cuantitativa continua de razón

### 2.3. Población y Muestra

**Población:** Cepa de *Candida albicans* ATCC 10231 cultivada en placas Petri con extracto etanólico de toronja en el laboratorio.

Por ser un estudio experimental se calculó con la fórmula estadística de estimación la comparación de dos proporciones para hallar el número de placas Petri necesarias que validen y verifiquen la investigación, por lo que se utilizó la siguiente fórmula:

$$n \geq \frac{\left( Z_{1-\alpha/2} + Z_{1-\beta} \right)^2 \left( \sigma_1^2 + \frac{\sigma_2^2}{r} \right)}{(\mu_1 - \mu_2)^2} = 8$$

$Z_{1-\alpha/2} = 1.96$  (asumiendo un nivel de confianza del 95%)

$Z_{1-\beta} = 0.842$  (asumiendo una potencia estadística del 80%)

Promedio en el grupo 1 ( $\mu_1$ ): 13.19



Desvío estándar en el grupo 1 ( $\sigma_1$ ): 1.43

Promedio en el grupo 2 ( $\mu_2$ ): 10.33

Desvío estándar en el grupo 2 ( $\sigma_2$ ): 1.94

Tasa (grupo2/ grupo 1): 1

**Muestra:** constituida por 8 repeticiones, siendo un total de 40.

**Unidad de análisis:** fue cada una de las placas Petri inoculada por *Candida albicans* en extracto de toronja y clotrimazol.

### **CRITERIOS DE SELECCIÓN:**

**Criterios de inclusión:** Todas las placas que contuvieran cepa de *Candida albicans* ATCC 10231 cultivadas en agar glucosado Sabouraud por 48 horas a temperatura entre  $35^{\circ}\text{C} - 37^{\circ}\text{C}$ .

**Criterios de exclusión:** Se retiraron las placas contaminadas o que no tuvieron crecimiento de *C. albicans*.

#### 2.4. Técnicas e Instrumentos de Recolección de datos, validez y confiabilidad

Se utilizó como técnica la observación del crecimiento de la cepa de *Candida albicans* ATCC 10231 en las placas de cultivo.

El instrumento incluyó información sobre del número de placas, las diluciones y la medición del porcentaje de inhibición. (Ver anexo 02)<sup>22</sup>

En cuanto al procedimiento se realizó la siembra de la cepa de *Cándida albicans* ATCC 10231 en placas Petri con agar glucosado Sabouraud en el laboratorio y se realizó a la obtención del extracto etanólico de la semilla de toronja, estando el detalle del experimento en Anexo 01.

#### **Validez y confiabilidad del instrumento:**

Los procedimientos y técnicas utilizados están respaldado por Clinical and Laboratory Standards Institute - CLSI de Estados Unidos de América. Se tomó en cuenta los estándares M44-A2 y M60.

## 2.5. Método de Análisis De Datos

La información obtenida se procesó de la base de datos del programa SPSS 25 versión para Windows, donde la información fue presentada en las tablas de frecuencias simples y porcentajes. También se procedió a realizar la prueba de los opuestos, en la que se determinó tanto la normalidad como la homogeneidad de varianzas.

Con respecto a la normalidad, se aplicó la prueba de Shapiro – Wilk, debido a que la muestra es pequeña y menor de 35, mientras que para la homogeneidad de varianzas se utilizó la prueba de Levene.

Para probar la normalidad se usó la prueba de análisis de varianza, si los resultados son significativos se aplicó las pruebas de Duncan, para conocer cuál es el mejor tratamiento.

## 2.6. Aspectos Éticos

El estudio se realizó respetando los criterios de las Normas de Ética en la investigación considerados en la Declaración de Helsinsky<sup>21</sup>. Dado que es un estudio experimental; se obtuvo la aprobación del Comité de Investigación de la Facultad de Ciencias Médica de la Universidad César Vallejo de Trujillo y del Laboratorio donde se realizó la investigación

### III. RESULTADOS:

**TABLA N°1: Actividad antifúngica en diferentes concentraciones del extracto etanólico de semilla de Citrus Paradise “Toronja” y clotrimazol. Estudio in vitro**

Concentración del Extracto etanólico	N°	Media	Desviación estándar	Mínimo	Máximo
Toronja al 100%	8	20.00	1.31	18	22
Toronja al 75%	8	16.75	1.17	15	18
Toronja al 50%	8	10.25	1.28	9	12
Toronja al 25%	8	7.63	0.74	7	9
Clotrimazol	8	20.25	1.39	18	22
<b>Total</b>	40	14.98	5.337	7	22

**Fuente:** Ficha De Recolección Experimental.

**Elaboración:** Propia

**Interpretación:** La Actividad antifúngica del extracto etanólico de semilla de Citrus paradisi “toronja se evidencia a partir del 75% de concentración alcanzando su actividad máxima 18mm. Asimismo a una concentración de 100% el halo de inhibición alcanza un máximo de 22mm y una media de 20 mm  $\pm$  1.3 mm. En cuanto al clotrimazol, presentó un halo máximo de inhibición de 22mm y una media de 20.25 mm  $\pm$  1.4 mm.

**TABLA N° 2: Comparación de la actividad antifúngica del extracto etanólico de semilla de toronja y del clotrimazol, sobre cepas de *C. albicans***

TRATAMIENTO	N	HALO			
		1	2	3	4
TORONJA AL 25%	8	7.63			
TORONJA AL 50%	8		10.25		
TORONJA AL 75%	8			16.75	
TORONJA AL 100%	8				20.00
CLOTTRIMAZOL	8				20.25
Sig.		1.000	1.000	1.000	0.679

**Fuente:** ficha de recolección de laboratorio

**Elaboración:** Propia

**Interpretación:**

Al comparar la actividad antifúngica del extracto etanólico de semilla de toronja y del clotrimazol, sobre cepas de *C. albicans* podemos observar que los halos de inhibición

de mayor diámetro se presentaron en la concentración del extracto etanólico al 100% con una media de 20 mm, clotrimazol con un halo de inhibición mayor de 20.25mm, encontrándose que estadísticamente no hay diferencia significativa al aplicar cualquiera de los 2 tratamientos. Se concluye que el tratamiento de clotrimazol y el extracto etanólico de toronja al 100% tienen la actividad antifúngica sobre la cepa de candida albicans. Por lo cual se podría considerar como un tratamiento alternativo ante la ausencia de dicho medicamento.

**TABLA N°3: Efecto de la actividad antifúngica del extracto etanólico de toronja y clotrimazol sobre C. albicans**

Agente antimicótico	Actividad antifúngica					
	Resistente		Intermedio		Sensible	
	N	%	N	%	N	%
Toronja al 25%	8	100%	0	0%	0	0%
Toronja al 50%	8	100%	0	0%	0	0%
Toronja al 75%	4	50%	4	50%	0	0%
Toronja al 100%	0	0%	7	88%	1	13%
Clotrimazol	0	0%	6	75%	2	25%

FUENTE: ficha de recolección de laboratorio

ELABORACION: Propia

**INTERPRETACION:**

El extracto etanólico de toronja al 25% y 50% muestran resistencia en su totalidad de las muestras (100%), además la toronja en concentración al 100% muestra sensibilidad en el 13% de las muestras (1 muestra) y el clotrimazol fue sensible en 25% de las muestras sobre cepa de C. albicans como se evidencia en la tabla N° 3

#### IV. DISCUSION:

*Citrus paradisi* es una planta que se utiliza en la medicina tradicional por sus diferentes propiedades como son efectos antifúngicos, antimicrobianos y antimicótico. Es muy poco conocida científicamente, lo cual solo algunos investigadores lo han estudiado.

Esta investigación logro demostrar la actividad antifúngica *in vitro* del extracto etanólico de la semilla de *Citrus paradisi* sobre *C. albicans*; a concentraciones de 75% y 100% sobre cepa de *Candida albicans* tiene un halo de inhibición máxima de 18mm y 22mm (Tabla N° 1). Estos resultados son similares a los referidos en el estudio de Sharma, et al<sup>3</sup> (India, 2012) quienes encontraron que el extracto líquido de *Citrus paradisi* al 50 y 100% presenta un efecto antifúngico con halo de inhibición de 21 y 18 mm sobre las cepas de *C. albicans*.

Se comprobó que el extracto etanólico de semilla de *Citrus paradisi* tiene actividad antifúngica como lo comprueba los resultados vistos en la tabla 2 y 3. Estos resultados son compatible con los estudios realizados por Sharma, et al<sup>3</sup> (India, 2012) que demostró la capacidad antifúngica de una mezcla preparada de extracto de *Citrus paradisi* contra *C. albicans*; con el estudio de Cvetnic Z, et al<sup>4</sup> (Croacia, 2004), quienes demostraron el efecto antimicótico del extracto etanólico del *Citrus paradisi* frente a 10 cepas de hongos y 20 cepas de bacterias; con el estudio de Giannuzzi L, et al<sup>6</sup> (Argentina, 1993); quienes determinaron que el extracto de *Citrus paradisi* tiene un gran efecto antimicrobiano contra diversos microorganismos.

## **V. CONCLUSIONES:**

1. Existe actividad antifúngica del extracto etanólico de semilla de *Citrus paradisi* sobre cepas de *C. albicans* in vitro.
2. La actividad antifúngica del extracto etanólico de semilla de *Citrus paradisi* se demuestra a concentración de 75% y 100% sobre cepas de *Candida albicans*, siendo similar al efecto del Clotrimazol.

## **VI. RECOMENDACIONES:**

1. Se recomienda ampliar el estudio enfocado a la caracterización del extracto etanólico del *Citrus paradisi*; así como su efecto en otras bacterias y hongos de interés médico.
2. Realizar investigaciones sobre el extracto etanólico de *Citrus paradisi* para identificar la concentración mínimo letal para incluirla en la terapéutica clínica para el beneficio del usuario y/o pacientes.
3. Aplicar pruebas in vivo para determinar la efectividad y los niveles de toxicidad que puede ocasionar los componentes activos de *Citrus paradisi* y hallar su dosis terapéutica para indicar a los pacientes

## VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Sánchez M. Estudio de susceptibilidad y mecanismos de resistencia a antifúngicos en *Candida albicans* de aislados clínicos. [Tesis de postgrado]. Chile. Universidad de Chile. Facultad de bioquímica. 2014.
2. López k. Mecanismos de resistencia antifúngica de los azoles en *Candida albicans*. [Revista En Internet].2016 [Citado 20 De Agosto 2017]; 27: 127-136. Disponible En: <http://www.medigraphic.com/pdfs/revbio/bio-2016/bio163e.pdf>.
3. Sharma M, Sharma S. Phytochemical Screening and In vitro Antimicrobial Activity of Combined Citrus paradisi and Ficus carica Linn Aqueous Extracts. Journal Microbiologic. 2010; 1(3): 162-165. [Revista en Internet] 2004 [Consultado el 18 de Agosto de 2017]. Disponible en URL: [https://www.idosi.org/ijmr/ijmr1\(3\)10/12.pdf](https://www.idosi.org/ijmr/ijmr1(3)10/12.pdf).
4. Cvetnic Z, Vladimir R, Knezevic S. Antimicrobial activity of grapefruit seed and pulp ethanolic extract. Acta Pharm. 2004; 54: 243–250. [Revista en Internet] 2004 [Consultado el 18 de Agosto de 2017]. Disponible en URL: <https://hrcak.srce.hr/file/26006>.
5. Harich J. Antimicrobial grapefruit extract. [En línea] 1995 [Consultado el 18 de Agosto de 2017]. Disponible en URL: <http://www.patents.com/us-5631001.html>
6. Giannuzzi L y Zaritzky N. Chemical Preservatives Action on Microbial Growth in a Model System of Refrigerated Prepeeled Potatoes. Journal of Food Protection, Vol. 56, No. 9, Págs: 801-807. (September 1993). [En línea] 1993 [Consultado el 18 de Agosto de 2017]. Disponible en URL: <http://jfoodprotection.org/doi/pdf/10.4315/0362-028X-56.9.801>
7. Ionescu G, Kiehl R, Wichmann F, et al. Oral Citrus Seed Extract in Atopic Eczema: In Vitro and In Vivo Studies on Intestinal Microflora. Journal of Orthomolecular Medicine, Vol. 5, No. 3, 1990. [En línea] 1990 [Consultado el 18 de Agosto de 2017]. Disponible en URL: <http://orthomolecular.org/library/jom/1990/pdf/1990-v05n03-p155.pdf>
8. J Pontón, MD Moragues, J Gené, J Guarro, G Quindós. Hongos y actinomicetos alergénicos. Revista Iberoamericana de Micología, Bilbao, 2002. [Revista en Internet] 2002 [Consultado el 18 de Agosto de 2017]. Disponible en URL: <http://hongos-alergenicos.reviberoammicol.com/files/I.PDF>

9. Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo. *Candida albicans*. Revista DataBio, España, 2012. [Revista en Internet] 2012 [Consultado el 18 de Agosto de 2017]. Disponible en URL: <http://www.insht.es/RiesgosBiologicos/Contenidos/Fichas%20de%20agentes%20biologicos/Fichas/Hongos/Candida%20albicans.pdf>
10. Castañón O. Candidiasis o Candidosis. Departamento De Microbiología Y Parasitología. [Internet].UNAM. 2015 [Citado 11 De Agosto 2017].Disponible: <http://www.Facmed.Unam.Mx/Deptos/Microbiologia/Micologia/Candidosis.Html>
11. Biasoli M. Candidiasis. Centro de Referencia de Micología. Argentina. [Revista en Internet] 2013 [Consultado el 18 de Agosto de 2017]. Disponible en URL: [http://www.fbioyf.unr.edu.ar/evirtual/file.php/118/MATERIALES\\_2013/TEORICOS\\_2013/CANDIDIASIS\\_2013-1.pdf](http://www.fbioyf.unr.edu.ar/evirtual/file.php/118/MATERIALES_2013/TEORICOS_2013/CANDIDIASIS_2013-1.pdf)
12. Pinheiro P. Candidiasis vaginal: Causas, síntomas y tratamiento. Sitio web MD.Saúde. Brazil, 2017. [En línea] 2017 [Consultado el 18 de Agosto de 2017]. Disponible en URL: <https://www.mdsaude.com/es/2015/11/candidiasis-vaginal.html>
13. Sánchez L, Matos R y Kumakawa H. Infecciones micóticas superficiales. Revista Dermatología Peruana 2009, Vol 19(3). [En línea] 2009 [Consultado el 18 de Agosto de 2017]. Disponible en URL: [http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/dermatologia/v19\\_n3/pdf/a09v19n3.pdf](http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/dermatologia/v19_n3/pdf/a09v19n3.pdf).
14. Vielma B, Salas E, et al. Especies de *Candida* asociadas a lesiones bucales en pacientes con diabetes tipo 2. Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología 2016; 36:58-62. [En línea] 2009 [Consultado el 18 de Agosto de 2017]. Disponible en URL: <http://www.redalyc.org/pdf/1994/199450059006.pdf>
15. Flórez J. Farmacología Humana. 3ª edición. Editorial Masson. Barcelona, 1997.
16. Rodríguez R. Vademécum académico de medicamentos. Sexta edición. Editorial Mc Graw Hill. México, 2013.
17. Rojas H, Martínez J, Benavides A, et al. Concentración de fructosa en frutos de toronja (*Citrus paradisi* Macf.) en desarrollo. TecnoCiencia. Vol. X, Número 1. Enero-Abril 2016. [En línea] 2016 [Consultado el 18 de Agosto de 2017]. Disponible en URL: <https://hortintl.cals.ncsu.edu/sites/default/files/documents/concentraciondefructos aenfrutosdetoronjacitrusparadisimacfendesarrollo.pdf>



18. Monsell A. El extracto de semilla de pomelo: Una alternativa natural a los antibióticos. [En línea] 2013 [Consultado el 18 de Agosto de 2017]. Disponible en URL: <https://elpiperrakurbano.files.wordpress.com/2013/07/antibic3b3ticos-naturales.pdf>
19. García M. Extracto de semilla de pomelo: El antimicrobiano natural. 1a Edición. Gráficas Ulzama. España. 2008.
20. CCMsalud. Salud y Bienestar: Antifúngicos. Octubre 2017. [En línea] 2017 [Consultado el 20 de Octubre de 2017]. Disponible en URL: <http://salud.ccm.net/faq/7748-antifungicos-o-antimicoticos-definicion>
21. Manzini J. Declaración de Helsinki: Principios éticos para la investigación médica sobre sujetos humanos. Acta Bioethica. Argentina, 2000. [En línea] 2013 [Consultado el 18 de Agosto de 2017]. Disponible en URL: <http://www.scielo.cl/pdf/abioeth/v6n2/art10.pdf>
22. Aristizabal J. Evaluación de la actividad antifúngica de los extractos de las cáscaras y semillas de tres especies de cítricos contra el hongo fitopatógeno *Fusarium roseum*. [En línea] 2011 [Consultado el 20 de Octubre de 2017]. Disponible en URL: <https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/8842/tesis787.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

## VIII. ANEXO

### Anexo 01: PROCEDIMIENTO

#### 1. Tratamiento de la muestra

Los frutos frescos de *Citrus Paradisi* “Toronja”, se obtuvieron en el mercado zonal Palermo de Trujillo, procedentes de la localidad de La Libertad, en una cantidad de 4 Kg aproximadamente y se llevaron al laboratorio de Microbiología de la Universidad César Vallejo de Trujillo, donde se seleccionaron los ejemplares con buenas condiciones. Los frutos se lavaron con agua corriente y después con agua destilada clorada. Se colocaron sobre papel absorbente y se cortaron en mitades para exponer las semillas, las cuales se sacaron y colocaron en una bandeja de cartulina. Se llevó al horno a deshidratar a 40-45°C por 48 horas. Después, se trituró en un procesador de alimentos Oster hasta que se obtuvo partículas muy pequeñas y se reservó almacenándolo herméticamente en una bolsa negra.

#### 2. Obtención del extracto etanólico

El extracto etanólico de *Citrus paradisi* se obtuvo por el método de maceración en etanol de 96°; para ello, se colocó en un frasco de vidrio 20 g de la muestra deshidratada y triturada y 100 ml de etanol, se tapó el frasco herméticamente y se cubrió totalmente con papel aluminio. Luego, se dejó en lugar fresco y seco, a temperatura ambiente, por 8 días con agitación de 3 a 4 veces diarias. Después, se hizo una doble filtración. Primero se filtró a través de una gasa estéril y segundo a través de un papel filtro Whatman N°41. Este filtrado, se evaporó por ventilación con corrientes de aire frío en circuito cerrado en estufa, por 1 a 2 días, hasta que quedó a una concentración mayor a 163 mg/ML.

#### Determinación de la concentración del extracto etanólico de *Citrus paradisi*

##### Pesos de Luna de Reloj (LR) y Extracto Seco (ES)

LR1 = 9,37g	LR1+ES1 = 9,54g	ES1 = 0,17g = 170mg
LR2 = 9,40g	LR2+ES2 = 9,57g	ES2 = 0,17g = 170mg
LR3 = 9,40g	LR3+ES3 = 9,55g	ES3 = 0,15g = 150mg

PROMEDIO = 163mg/mL

**Concentración al 100% = 163mg/mL**

**Concentración al 75% = 122mg/mL**

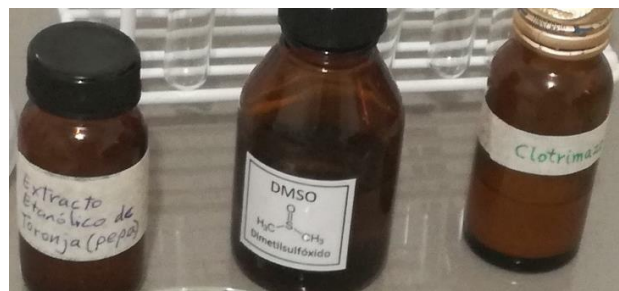
**Concentración al 50% = 81,5mg/mL**

**Concentración al 25% = 40,75mg/mL**

De este modo, se obtuvo el extracto etanólico (EE) considerado al 100%; el cual, se reservó en un frasco de vidrio ámbar a 4°C–6°C hasta su utilización.



Secado de la semilla de toronja



Preparación del extracto etanólico de toronja y clotrimazol

### 3. Preparación del medio de cultivo

Se utilizó agar Sabouraud glucosado como medio de cultivo. Se preparó suficiente medio para 10 placas petri. Este medio de cultivo se esterilizó en autoclave a 121°C por 15 minutos. Después, se sirvió en placas petri estériles de plástico desechables, 18-20 ml por cada placa, y se dejó reposar hasta que solidificó completamente.

#### 4. Prueba de susceptibilidad (Prueba de Disco difusión en agar)

Se evaluó utilizando el método de Kirby-Bauer de disco difusión en agar. Para ello, se consideró los criterios del Clinical and Laboratory Standards Institute - CLSI de Estados Unidos de América. Se tomó en cuenta los estándares M44-A2 y M60.

##### a) Preparación del inóculo

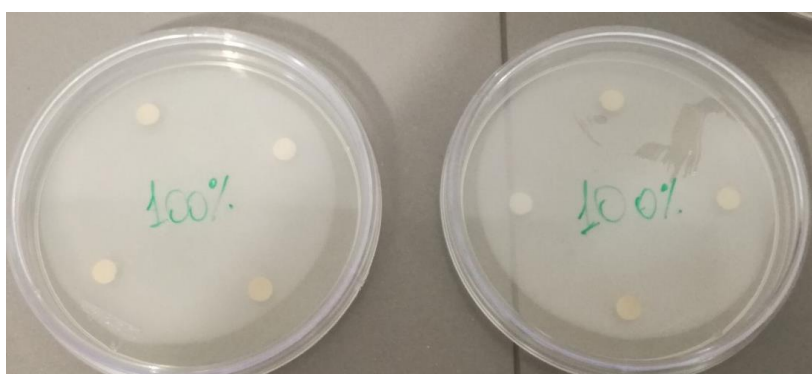
El inóculo se preparó colocando 2-3 ml de suero fisiológico en un tubo de ensayo estéril, al cual se le adicionó una alícuota del microorganismo *Candida albicans*, cultivado hace 24 horas, de tal modo que se observó una turbidez equivalente al tubo 0,5 de la escala de McFarland ( $1,5 \times 10^8$  UFC/ml aprox.)

##### b) Siembra del microorganismo

Se sembró el microorganismo *Candida albicans*, embebiendo un hisopo estéril en el inóculo y deslizándolo sobre toda la superficie del medio de cultivo en las placas petri (siembra por estrías en superficie); de tal modo, que el microorganismo quedó como una capa en toda la superficie.

##### c) Preparación de las concentraciones del EE

A partir del EE, se prepararon 4 concentraciones (100%, 75%, 50% y 25%) utilizando como solvente Dimetil Sulfoxido (DMSO); para ello, se rotularon 4 tubos de ensayo de 13x100mm estériles con las 4 concentraciones y se colocó 750  $\mu$ L de EE y 250  $\mu$ L de DMSO al tubo de 75%, 500  $\mu$ L de EE y 500  $\mu$ L de DMSO al tubo de 50%, y 250  $\mu$ L de EE y 750  $\mu$ L de DMSO al tubo de 25%.



Placas de *Candida albicans* con extracto etanólico a concentración de 100% de *Citrus paradisi*



Concentración de 50 % y 25% de extracto etanólico de citrus paradisi.

d) Preparación de los discos de sensibilidad con EE

A partir de cada una de las concentraciones, se colocó 10  $\mu$ L en cada disco de papel filtro Whatman N° 1 de 6mm de diámetro, previamente esterilizados. Se tomó 10  $\mu$ L de EE al 25% y se colocó en un disco, 10  $\mu$ L de EE al 50% en otro disco, 10  $\mu$ L de EE al 75% en otro disco y 10  $\mu$ L de EE al 100% en otro disco. Esto se repitió por 10 veces.

e) Confrontación del microorganismo con el agente antimicrobiano

Con la ayuda de una pinza metálica estéril, se tomaron los discos de sensibilidad preparados, uno de cada concentración con EE, y se colocaron en la superficie del agar sembrado con el microorganismo *Candida albicans*, de tal modo que quedaron los discos (uno de cada concentración) a un cm del borde de la placa Petri y de forma equidistante. Adicionalmente, se colocó el disco con clotrimazol (control positivo). Se dejaron en reposo por 15 min y después las placas se incubaron de forma invertida en la estufa a 35-37°C por 18-20 horas.



### Lectura e interpretación

La lectura se realizó observando y midiendo con una regla Vernier, el diámetro de la zona de inhibición de crecimiento microbiano. Esta medición se realizó para cada una de las concentraciones de EE de *Citrus paradisi* y para el clotrimazol. Se interpretó como sensible o resistente, según lo establecido en el Estándar M100 del CLSI.

### Anexo 02: RECOLECCIÓN DE DATOS

ZONA DE INHIBICIÓN (mm)						
Nº	Extracto alcohólico de semilla de toronja				Clotrimazol	DMSO
	100%	75%	50%	25%		
1	21	18	12	8	22	0
2	18	17	10	9	20	0
3	22	18	12	7	20	0
4	19	15	9	8	21	0
5	19	16	9	7	19	0
6	20	16	11	7	22	0
7	21	16	9	7	20	0
8	20	18	10	8	18	0

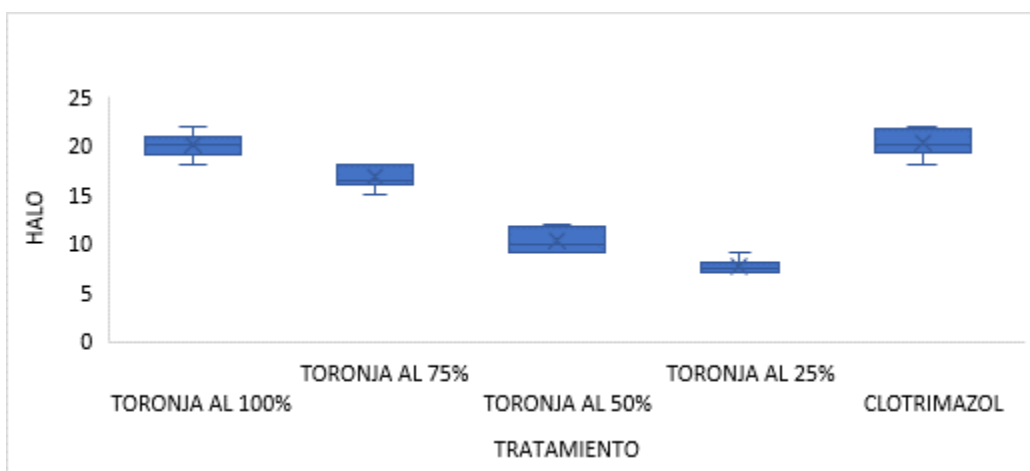
**Tabla: Análisis de varianza del efecto del extracto etanólico de toronja y clotrimazol sobre *C. albicans***

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
<b>Entre grupos</b>	1060.600	4	265.150	184.223	0.000
<b>Dentro de grupos</b>	50.375	35	1.439		
<b>Total</b>	1110.975	39			

FUENTE: ficha de recolección de laboratorio

ELABORACION: Propia

INTERPRETACION: Podemos observar que existe diferencia significativa entre las medias de los tratamientos aplicados pues  $p = 0.00$  ( $p < 0.05$ ), lo que nos muestra que rechazamos la hipótesis nula; es decir el extracto etanólico de semilla del *Citrus paradisi* “toronja” tiene actividad antifúngica in vitro sobre cepa de *Candida albicans* comparado con clotrimazol



**Figura: Actividad antifúngica del extracto etanólico de semilla del *Citrus paradisi* “toronja” comparado con clotrimazol sobre cepas de *C. albicans*, en un estudio in vitro.**

FUENTE: ficha de recolección de laboratorio

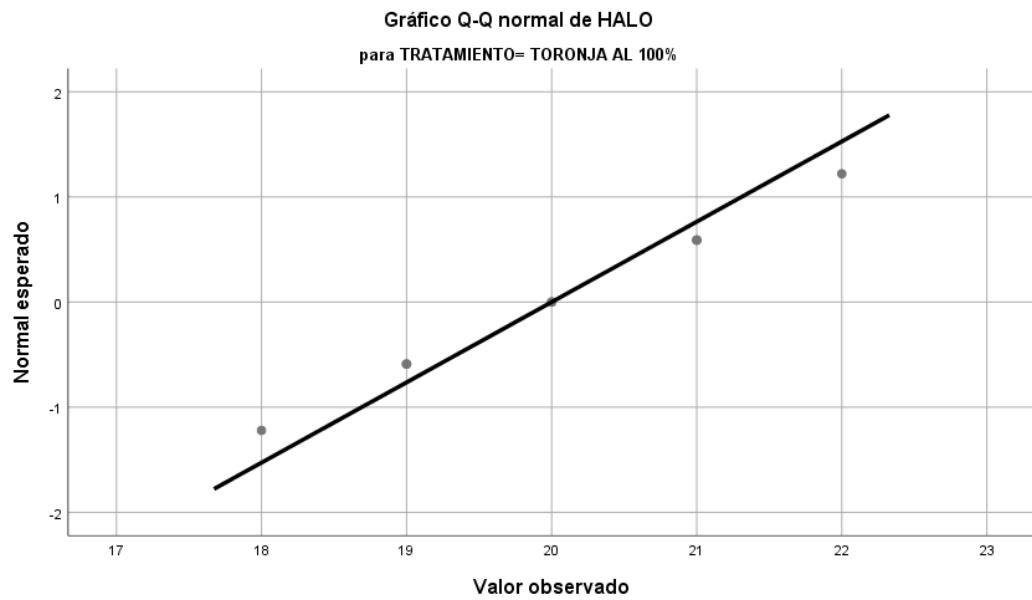
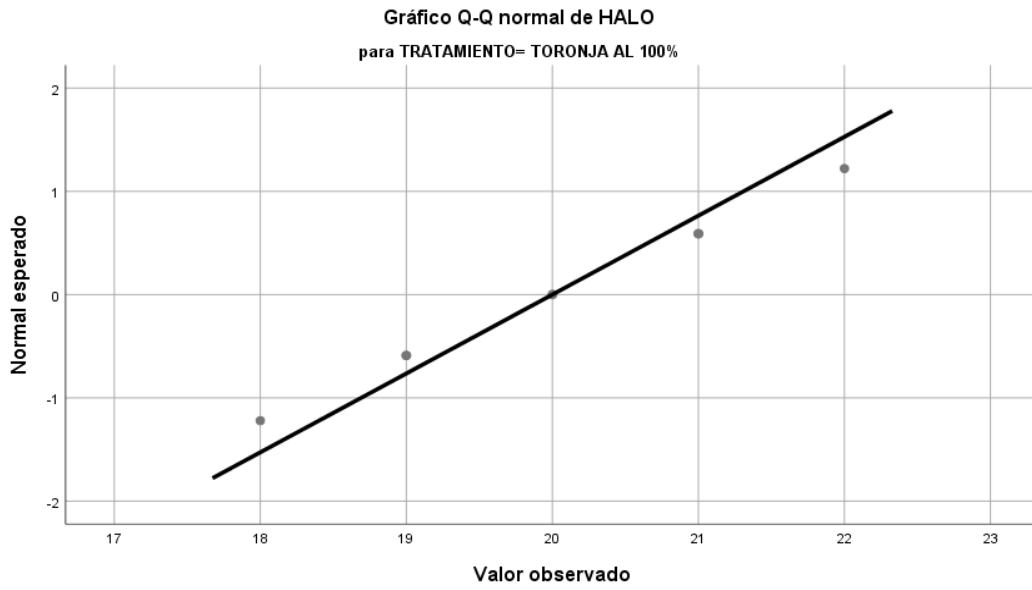
ELABORACION: Propia

INTERPRETACION: En cuanto a la actividad antifúngica sobre *C. albicans*, se evidencia que el clotrimazol y el extracto etanólico de semilla del *Citrus paradisi* a concentración 100% tiene el mismo efecto antifúngico.

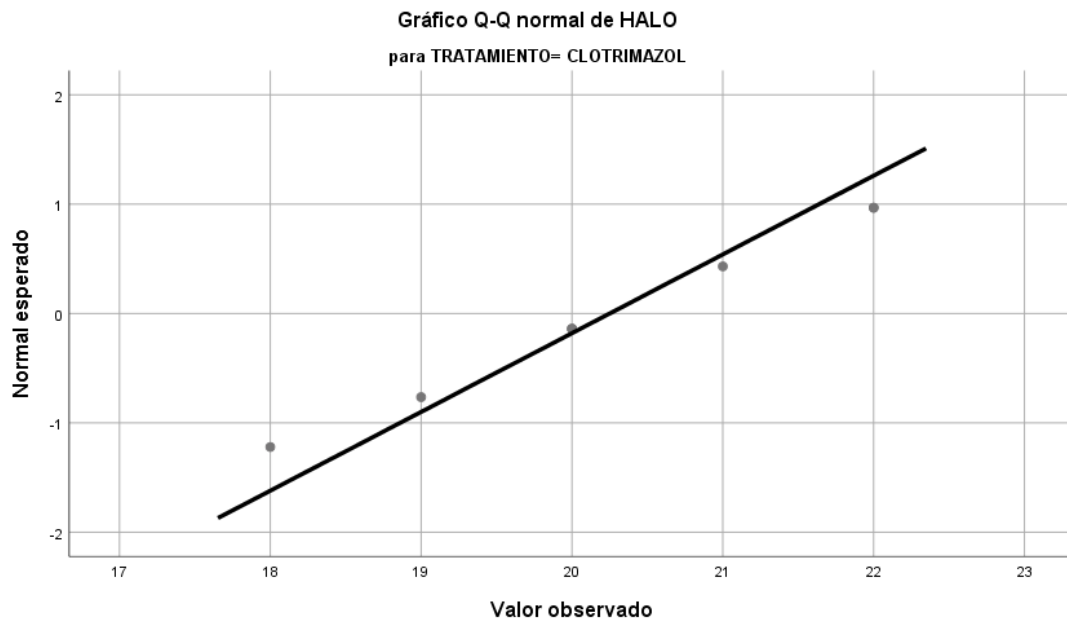
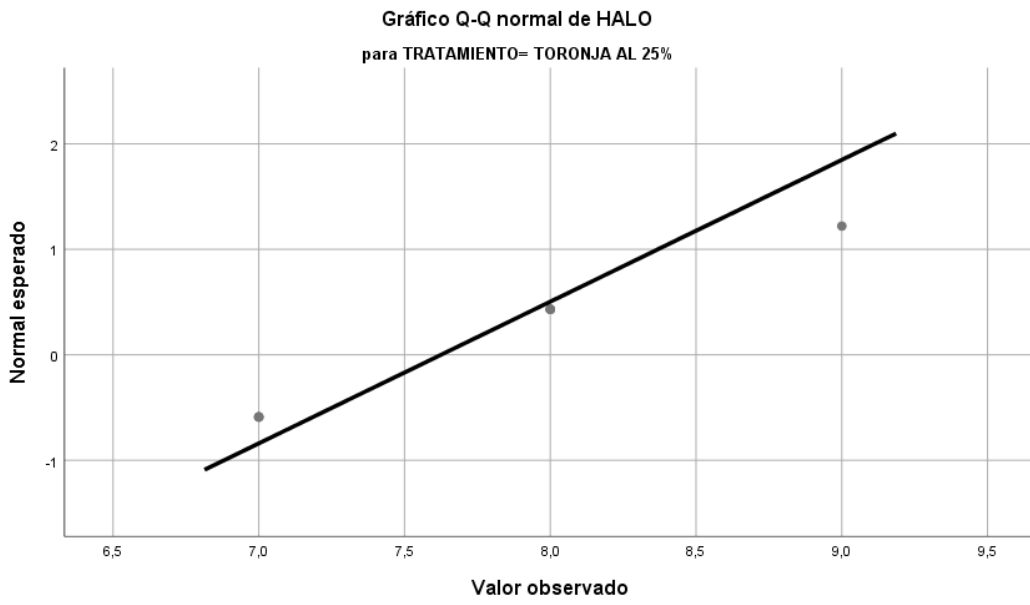
TRATAMIENTO:

**Pruebas de normalidad**

HALO	TRATAMIENTO	Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.
	TORONJA AL 100%	,965	8	,857
	TORONJA AL 75%	,858	8	,114
	TORONJA AL 50%	,843	8	,082
	TORONJA AL 25%	,798	8	,027
	CLOTRIMAZOL	,931	8	,521









# Herbarium Truxillense (HUT)

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



Constancia N° 064A - 2018- HUT

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

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

- **Clase:** Equisetopsida
- **Subclase:** Magnoliidae.
- **Super Orden:** Rosanae
- **Orden:** Sapindales
- **Familia:** Rutaceae
- **Género:** *Citrus*
- **Especie:** *C. paradisi* Macfad.
- **Nombre común:** "toronja"

Muestra alcanzada a este despacho por **SOLEDAD ALBORNOZ SHERLY AUDREY**, con domicilio legal en Av. Condorcanqui 2117- La Esperanza. Estudiante de la Escuela Académico Profesional de Medicina, Facultad de Ciencias Médicas, de la Universidad César Vallejo, cuya determinación taxonómica servirá para la realización de la tesis titulada: "ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE SEMILLA DE *Citrus paradisi* "TORONJA" SOBRE *Candida albicans* ATCC 10231 COMPARADO CON CLOTRIMAZOL, ESTUDIO IN VITRO"

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

Trujillo, 06 de agosto del 2018



*[Handwritten Signature]*  
Dr. JOSE MOSTACERO LEÓN  
Director del Herbario HUT

cc. Herbario HUT

E- mail: [herbariumtruxillensehut@yahoo.com](mailto:herbariumtruxillensehut@yahoo.com)