



FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD  
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

**ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA IN VITRO DEL EXTRACTO  
HIDROALCOHÓLICO DE LAS HOJAS DE *Bidens pilosa*  
“SAETILLA” SOBRE *Candida albicans***

TESIS PARA OPTAR TÍTULO PROFESIONAL DE QUÍMICO  
FARMACÉUTICO

**AUTORES**

Bach. MAÑUICO FLORES, MARILYN  
<https://orcid.org/0009-0002-3042-670X>

Bach. PUMA ACHULLA, SOLVI MARITZA  
<https://orcid.org/0009-0006-8866-0581>

**ASESOR**

Mg. GIRALDO BARDALAMA, LEONARDO JESÚS  
<https://orcid.org/0000-0001-9953-0957>

**LIMA – PERÚ**

**2023**

## AUTORIZACIÓN Y DECLARACIÓN JURADA DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD

Yo, Marilyn Mañuico Flores con DNI N° 70096642 , en mi condición de autor(a) de la tesis/ trabajo de investigación/ trabajo académico presentada para optar el Título Profesional de “Químico Farmacéutico”, **AUTORIZO** a la Universidad María Auxiliadora (UMA) para reproducir y publicar de manera permanente e indefinida en su repositorio institucional, bajo la modalidad de acceso abierto, el archivo digital que estoy entregando, en cumplimiento a la Ley N°30035 que regula el Repositorio Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación de acceso abierto y su respectivo Reglamento.

Asimismo, **DECLARO BAJO JURAMENTO**<sup>1</sup> que dicho documento es **ORIGINAL** con un porcentaje de similitud de 11 % y que se han respetado los derechos de autor en la elaboración del mismo. Además, recalcar que se está entregado la versión final del documento sustentado y aprobado por el jurado evaluador.

En señal de conformidad con lo autorizado y declarado, firmo el presente documento a los 23 días del mes de Junio del año 2023.



---

Marilyn Mañuico Flores  
70096642



---

Leonardo J. Giraldo Bardalama  
10728715

---

<sup>1</sup> Se emite la presente declaración en virtud de lo dispuesto en el artículo 8°, numeral 8.2, tercer párrafo, del Reglamento del Registro Nacional de Trabajos conducentes a Grados y Títulos – RENATI, aprobado mediante Resolución de Consejo Directivo N° 033-2016-SUNEDU/CD, modificado por Resolución de Consejo Directivo N° 174-2019-SUNEDU/CD y Resolución de Consejo Directivo N° 084-2022-SUNEDU/CD.

## AUTORIZACIÓN Y DECLARACIÓN JURADA DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD

Yo, Solvi Maritza Puma Achulla , con DNI N° 70990066 , en mi condición de autor(a) de la tesis/ trabajo de investigación/ trabajo académico presentada para optar el Título Profesional de "Químico Farmacéutico", **AUTORIZO** a la Universidad María Auxiliadora (UMA) para reproducir y publicar de manera permanente e indefinida en su repositorio institucional, bajo la modalidad de acceso abierto, el archivo digital que estoy entregando, en cumplimiento a la Ley N°30035 que regula el Repositorio Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación de acceso abierto y su respectivo Reglamento.

Asimismo, **DECLARO BAJO JURAMENTO**<sup>1</sup> que dicho documento es **ORIGINAL** con un porcentaje de similitud de 11 % y que se han respetado los derechos de autor en la elaboración del mismo. Además, recalcar que se está entregado la versión final del documento sustentado y aprobado por el jurado evaluador.

En señal de conformidad con lo autorizado y declarado, firmo el presente documento a los 23 días del mes de Junio del año 2023.



---

Solvi Maritza Puma Achulla  
70990066



---

Leonardo J. Giraldo Bardalama  
10728715

---

<sup>1</sup> Se emite la presente declaración en virtud de lo dispuesto en el artículo 8°, numeral 8.2, tercer párrafo, del Reglamento del Registro Nacional de Trabajos conducentes a Grados y Títulos – RENATI, aprobado mediante Resolución de Consejo Directivo N° 033-2016-SUNEDU/CD, modificado por Resolución de Consejo Directivo N° 174-2019-SUNEDU/CD y Resolución de Consejo Directivo N° 084-2022-SUNEDU/CD.

# INFORME DE ORIGINALIDAD - TURNITIN

## APlagio INFORME DE TESIS\_MAUÍCO\_PUMA

### INFORME DE ORIGINALIDAD

<b>11</b> %	<b>11</b> %	<b>3</b> %	<b>1</b> %
INDICE DE SIMILITUD	FUENTES DE INTERNET	PUBLICACIONES	TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

### FUENTES PRIMARIAS

<b>1</b>	<b>repositorio.uma.edu.pe</b> Fuente de Internet	<b>5</b> %
<b>2</b>	<b>hdl.handle.net</b> Fuente de Internet	<b>4</b> %
<b>3</b>	<b>www.dspace.unitru.edu.pe</b> Fuente de Internet	<b>2</b> %
<b>4</b>	<b>repositorio.uigv.edu.pe</b> Fuente de Internet	<b>1</b> %
<b>5</b>	<b>Submitted to Staffordshire University</b> Trabajo del estudiante	<b>1</b> %

Excluir citas  Activo

Excluir bibliografía  Activo

Excluir coincidencias  < 1%

## **Dedicatoria:**

Dedicamos este trabajo a nuestros padres por habernos forjado como la persona que somos en la actualidad, muchos de nuestros logros se los debemos a ellos, entre los que incluye el de ahora. Nos formaron con reglas y nos motivaron constantemente para alcanzar nuestros anhelos.

*Mañuico Flores, Marilyn*

*Puma Achulla, Solvi Maritza*

### **Agradecimiento:**

Agradecemos a Dios, ser divino por darnos la vida y guiar nuestros pasos día a día. A nuestros maestros por sus enseñanzas para desarrollarnos profesionalmente y habernos brindado todos sus conocimientos. Y a la facultad de Farmacia y Bioquímica de nuestra Universidad María Auxiliadora.

*Los autores*

## ÍNDICE GENERAL

Dedicatoria	ii
Agradecimiento	iii
Índice general	iv
Índice de figuras	v
Índice de tablas	vi
Resumen	viii
Abstract	ix
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MATERIALES Y MÉTODOS	7
III. RESULTADOS	14
IV. DISCUSIÓN	22
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	27
ANEXOS	32

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Recolección de la muestra vegetal	10
<b>Figura 2.</b> Elaboración del extracto	11
<b>Figura 3.</b> Prueba de solubilidad	11
<b>Figura 4.</b> Marcha fitoquímica	12
<b>Figura 5.</b> Actividad antifúngica	13
<b>Figura 6.</b> Ensayo de actividad antifúngica	16
<b>Figura 7.</b> Ensayo comparativo con el Fluconazol	21



## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Prueba de solubilidad	14
<b>Tabla 2.</b> Tamizaje fitoquímico	14
<b>Tabla 3.</b> Ensayo de actividad antifúngica	16
<b>Tabla 4.</b> Resultado de las medidas de los halos de inhibición	17
<b>Tabla 5.</b> Resultado del test de Shapiro-wilk con real statistics de Excel	18
<b>Tabla 6.</b> Test de Shapiro-wilk con SPSS	18
<b>Tabla 7.</b> Prueba de Kruskal-Wallis	19
<b>Tabla 8.</b> Prueba de Dunn-Bonferroni	19
<b>Tabla 9.</b> Grado de efectividad in vitro del extracto en comparación con fluconazol	21

## **ANEXOS**

<b>ANEXO A:</b> Certificados empleados en la realización del trabajo de investigación.	33
<b>ANEXO B:</b> Matriz de consistencia	43
<b>ANEXO C:</b> Operacionalización de las variables	44
<b>ANEXO D:</b> Documentos obtenidos para el desarrollo de la investigación	45
<b>ANEXO E:</b> Evidencias fotográficas	47

## RESUMEN

**Objetivo:** Demostrar la actividad antifúngica *in vitro* del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Bidens pilosa* “Saetilla” sobre *Candida albicans*.

**Material y método:** La metodología fue cuantitativa, transversal y experimental. Las hojas fueron recolectadas en el Distrito de Vinchos - Provincia: Huamanga – Departamento de Ayacucho. Se realizó un estudio taxonómico, prueba de solubilidad, marcha fitoquímica y actividad antifúngica (Kirby Bauer - método de difusión en agar en pozo). Las concentraciones fueron: 25%, 50%, 75%, 100% y el control fue fluconazol.

**Resultados:** El extracto fue soluble en solventes polares derivados de alcoholes de cadena corta y agua. Se identificaron: esteroides y terpenoides, compuestos fenólicos, flavonoides, cumarinas, alcaloides, glucósidos y aminoácidos. La actividad antifúngica susceptible se evidenció a concentraciones al 75% (23.99 mm) y al 100% (28.09 mm), la concentración al 50% evidenció un halo de 18.22 mm y la concentración al 25% presentó un halo de 11.96 mm, el control (Fluconazol) presentó un halo de inhibición de 32.31 mm.

**Conclusión:** Se demostró la actividad antifúngica *in vitro* del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Bidens pilosa* “Saetilla” sobre *Candida albicans* a las concentraciones de 75 y 100%.

**Palabras clave:** Actividad antifúngica, metabolitos secundarios, *Bidens pilosa* “Saetilla”.

## ABSTRACT

**Objective:** To demonstrate the in vitro antifungal activity of the hydroalcoholic extract of *Bidens pilosa* "Saetilla" leaves on *Candida albicans*.

**Material and method:** The methodology was quantitative, cross-sectional and experimental. The leaves were collected in the District of Vinchos - Province: Huamanga - Department of Ayacucho. A taxonomic study, solubility test, phytochemical march and antifungal activity (Kirby Bauer - well agar diffusion method) was carried out. The concentrations were 25%, 50%, 75%, 100% and the control was fluconazole.

**Results:** The extract was soluble in polar solvents derived from short-chain alcohols and water. The following were identified: steroids and terpenoids, phenolic compounds, flavonoids, coumarins, alkaloids, glycosides and amino acids. The susceptible antifungal activity was evidenced at 75% (23.99 mm) and 100% (28.09 mm) concentrations, the 50% concentration showed a halo of 18.22 mm and the 25% concentration presented a halo of 11.96 mm, the control (Fluconazole) presented an inhibition halo of 32.31 mm.

**Conclusion:** The in vitro antifungal activity of the hydroalcoholic extract of *Bidens pilosa* "Saetilla" leaves on *Candida albicans* at concentrations of 75 and 100% was demonstrated.

**Key words:** Antifungal activity, secondary metabolites, *Bidens pilosa* "Saetilla".

## I. INTRODUCCIÓN

Las enfermedades fúngicas invasoras (EFI) se han convertido en los últimos años en un problema emergente que está desplazando a las enfermedades nosocomiales tradicionales en un 40% y en los países en vías de desarrollo son un problema que afecta al 70% de su población entre adultos y niños de diferentes edades <sup>1,2</sup>. El desplazamiento de la población a lugares más turgurizados, la escasez de servicios básicos como agua y desagüe, el incremento de enfermedades debilitantes como diabetes, cáncer, pacientes inmunocomprometidos, enfermedades respiratorias, el cambio climático, ha puesto de manifiesto la mayor susceptibilidad de las personas a las enfermedades causadas por hongos <sup>3</sup>.

La *Candida* es un género de hongos que generalmente se encuentra en pequeñas cantidades en el cuerpo humano, sin embargo, en ciertas circunstancias puede multiplicarse de manera descontrolada, dando lugar a una infección denominada candidemia. Esta enfermedad puede manifestarse de diferentes formas dependiendo de la localización de la infección. En el caso de la piel, puede ocasionar síntomas como enrojecimiento, picazón, descamación e incluso ulceraciones. En las mucosas, se puede observar inflamación, irritación y secreción anormal. En el tracto gastrointestinal, la candidemia puede causar malestar abdominal, diarrea, náuseas y vómitos. Las personas con sistemas inmunológicos debilitados, como los pacientes que han recibido trasplantes de órganos, aquellos que están bajo tratamiento con inmunosupresores o los que padecen enfermedades crónicas, son más propensas a desarrollar esta infección. Además, el uso prolongado de antibióticos, la presencia de catéteres o sondas urinarias, así como la falta de higiene adecuada, también pueden aumentar el riesgo de padecer candidemia. El diagnóstico de la candidemia se realiza a través de pruebas de laboratorio que permiten identificar la presencia de los hongos en muestras obtenidas de la piel, mucosas o tracto gastrointestinal. Una vez confirmada la presencia de candidemia, se procede al tratamiento mediante antifúngicos, los cuales pueden ser administrados de forma tópica, oral o intravenosa, dependiendo de la gravedad de la infección <sup>4</sup>.

A nivel mundial, la candidiasis se encuentra muy extendida estando presente en la mayoría de los continentes. Dinamarca, Islandia y Noruega reportan un

incremento de la candidiasis de 2 a 3 personas por 100 atendidos, España e Italia, reporta un incremento de 2 personas por cada 1000 atendidos, en Suiza la prevalencia de candidiasis se encuentra en aumento, Australia 2 personas por cada 100 atendidos, Corea del Sur reporta 29 casos nuevos al año por cada 100 admisiones <sup>5-6</sup>.

En América un estudio realizado en Estados Unidos sobre infecciones nosocomiales reportó que el 9% de los pacientes presentaron candidiasis durante su permanencia hospitalaria. En México se reporta 1938 casos nuevos de candidiasis, Colombia reporta 2 a 3 nuevos casos de *cándida* por cada 100 pacientes que acuden a los centros hospitalarios, Argentina 1 a 2 nuevos casos, Venezuela 2 a 3 nuevos casos, Honduras 1 caso, Ecuador y Chile 1 nuevo caso <sup>7-8</sup>.

En el Perú, los reportes de *cándida* en los hospitales de Lima y Callao siguen en aumento (27%), los informes señalan la existencia de cepas resistente al tratamiento con fluconazol (2.6%) <sup>9</sup>, esta situación requiere caracterizar al agente causal y establecer las estrategias de tratamiento más eficaces y eficientes para esta enfermedad fúngica, disminuir su avance y erradicarla. En vista de la situación tan alarmante y con la posibilidad de que entremos en un corto tiempo a un problema de salud pública, es que es necesario realizar esta investigación.

En el Perú, muchas enfermedades infecciosas son desatendidas (EID), estas enfermedades afectan sobre todo a personas que viven en condiciones socioeconómicas desfavorecidas, es por ello que el Ministerio de Salud en colaboración con OMS, priorizaron la atención de las EID. En esta situación la realización de esta investigación se justifica ya que la Candidiasis es una enfermedad que está en aumento afectando física y mental a las personas que la padecen, perjudicando su capacidad laboral y por lo tanto su capacidad para generar ingresos propios y familiares al realizar altas inversiones en la recuperación de su salud. Por ello la búsqueda constante de alternativas terapéuticas que puedan emplearse para paliar esta enfermedad es que se justifican el desarrollo de esta investigación.

La actividad antifúngica; es el proceso por el cual una sustancia de origen natural o sintético, tiene la capacidad de disminuir el crecimiento o provocar la muerte de los hongos que invaden el organismo sin provocar daños sobre el huésped <sup>10</sup>.

*Bidens pilosa*; es una planta nativa silvestre, la podemos encontrar en todo el continente americano, crece en suelos con poca necesidad de agua y luz <sup>11</sup>. Su familia botánica ha mostrado mucho interés por parte de los especialistas que ya han apreciado sus cualidades como antimicrobianas, antitumorales y antiulcerosas <sup>12</sup>. Puede utilizarse todas sus partes en diferentes preparaciones, los estudios a esta familia han evidenciado la presencia de flavonoides, taninos, compuestos fenólicos, esteroides, esteroles, terpenos, saponinas y azúcares lo que permite una gran variedad de tratamientos sobre diversas enfermedades <sup>13</sup>. Se piensa que la planta puede destruir la membrana celular de los patógenos e interferir en la síntesis proteica <sup>11</sup>.

*Albicans*; es un tipo de hongo dismórfico oportunista, perteneciente a la familia Ascomycota, prolifera a temperatura ambiente (37°C), de reproducción asexual, al microscopio se puede observar células ovaladas en racimos de 3 a 8 y de un tamaño de 2 a 7 micras <sup>14</sup>. Al proceso infeccioso se le conoce con el nombre de candidiasis y puede aparecer por climas húmedos, sudoración del huésped, vestimenta de ropa apretada, también es frecuente en niños lactantes y ancianos, en personas inmunodeprimidas o que usan medicamentos inmunosupresores <sup>15</sup>. La enfermedad puede aparecer en la boca, ingle, en la piel y mucosas, dejando la zona con una coloración blanquecina y con presencia de descamación <sup>16</sup>.

Los antecedentes nacionales consultados fueron:

Mamani T. y Quispe P.<sup>17</sup> en Lima-Perú, en el año 2022, evaluaron la actividad antibacteriana sobre *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* del aceite de hojas y tallos de *Bidens pilosa* L. Se prepararon concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100%. El extracto presentó solubilidad en derivados alcohólico y agua destilada. Los metabolitos encontrados fueron: alcaloides, fenoles, flavonoides. Todas las concentraciones presentaron resistencia sobre las bacterias estudiadas, el halo de inhibición formado no fue relevante en la parte experimental.

Castillo R. <sup>18</sup> en Lima-Perú, en el año 2021, evaluó el aceite esencial *Origanum vulgare* en *Candida albicans*. Se prepararon concentraciones al 25%, 50%, 75%

y 100% demostrándose que las concentraciones al 75% (21.33 mm) y 100% (27.99 mm) presentaron los mayores halos de inhibición a las 72 horas de exposición. El control presentó mayor eficacia a las 48 horas.

Cieza C. Ucancial H.<sup>19</sup> en Lima-Perú, en el año 2021, evaluaron la actividad antibacteriana del extracto alcohólico de las hojas secas de *Bidens pilosa* sobre *Escherichia coli* y *Salmonella entérica*. Los resultados demostraron que el extracto presenta solubilidad importante en alcohol etílico, agua destilada, no presenta solubilidad en solventes apolares. Las cepas de estudio presentaron resistencia sobre las diferentes concentraciones evaluadas

Bok Y. Egusquiza E.<sup>20</sup> en Lima-Perú, en el año 2019, evaluaron la actividad del extracto acuoso del fruto de *Passiflora tripartita* (tumbo) sobre *albicans* y *tropicalis*. Los resultados demostraron que concentraciones del 5% al 30% presentaron efectividad sobre las cepas, concentraciones elevadas no rindieron ningún resultado, la presencia de metabolitos como compuestos fenólicos, flavonoides, alcaloides, saponinas, cumarinas fueron responsables del efecto fungicida.

Alonso E.<sup>21</sup> en Lima-Perú, en el año 2019, evaluó el efecto del extracto acuoso de las hojas de *Bidens pilosa* en *Staphylococcus aureus*. Se prepararon concentraciones al 10% y 20%, la primera concentración alcanzó 14.6 mm de exposición de halo y la segunda 21 mm. La comparación con el producto control resultó menor al esperado.

Anselmo R. Flores R.<sup>22</sup> en Lima-Perú, en el año 2018, evaluaron la actividad antifúngica del extracto etanolico de las hojas secas de *Lomanthus truxillensis* sobre *Candida albicans* y *Aspergillus brasiliensis*. Se emplearon concentraciones desde el 5% al 75% siendo más efectivas las concentraciones al 30% y 75% sobre ambas cepas. La presencia de metabolitos secundarios como compuestos fenólicos, flavonoides, taninos, aminoácidos, saponinas y quinonas fueron responsables de la actividad fungicida.

Los antecedentes internacionales consultados fueron:



Oladipupo A.<sup>23</sup> en Lagos Nigeria, en el año 2015. Evaluó la actividad antibacteriana del extracto acuoso de las hojas, tallo y raíz de *Bidens pilosa*, las cepas sometidas al estudio fueron del tipo gram (+ -). El estudio de solubilidad demostró resultados en solventes polares y no en apolares. Los metabolitos reportados fueron saponinas, alcaloides, flavonoides, taninos, esteroides, terpenos y glucósidos. Se evaluaron concentraciones del 25% al 75% reportándose que esta última presentó un halo de inhibición sobre las bacterias estudiadas hasta 11.5 mm siendo esto inferior a los controles de ciprofloxacina y cloranfenicol los cuales alcanzaron entre 15.5 mm hasta 21,3 mm.

Jaramillo C.<sup>24</sup> en Quito Ecuador, evaluó la actividad antifúngica y antibacteriana in vitro del extracto etanólico de *Usnea laevis* frente a *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*. Los resultados demostraron la presencia de metabolitos como ácido úsnico, eugenol, ergostero. Los resultados de la actividad microbiana evidenciaron en *Candida albicans* una respuesta muy sensible con un halo de 17.07 mm, sobre *Staphylococcus aureus* muy sensible 16.00 mm y *Pseudomonas aeruginosa* sensible 14.03mm.

Ferreira M. y colaboradores <sup>25</sup> en Sao Pablo Brasil, evaluaron la actividad antifúngica de los terpenos sobre *Candida albicans*. Los resultados demostraron que el  $\alpha$ -terpineno 0,1% y nistatina 256  $\mu\text{g/mL}$  hubo una disminución de la viabilidad celular en comparación con el control ( $p < 0,05$ ). Así, se consideró que el  $\alpha$ -terpineno es capaz de disminuir, pero no eliminar, la viabilidad celular de *Candida albicans* en el biofilm.

Guzmán S, Alarcón A <sup>34</sup>. Investigaron la actividad antifúngica in vitro del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Bidens pilosa* (conocida como "saetilla") contra *Candida albicans*. Se realizó una evaluación de la actividad antifúngica mediante la determinación de la concentración inhibitoria mínima (CIM) y la concentración fungicida mínima (CFM) del extracto de *B. pilosa*. Además, se realizó un estudio de microscopía electrónica de barrido para investigar los posibles efectos morfológicos del extracto sobre *C. albicans*. Los resultados mostraron que el extracto hidroalcohólico de *B. pilosa* exhibió una significativa actividad antifúngica contra *C. albicans*, con una CIM de 64  $\mu\text{g/mL}$  y una CFM de 256  $\mu\text{g/mL}$ . El estudio de microscopía electrónica reveló alteraciones morfológicas en

las células de *C. albicans* tratadas con el extracto, incluyendo la deformación de la membrana y la formación de vacuolas citoplasmáticas. Estos hallazgos sugieren el potencial de *B. pilosa* como una fuente de compuestos antifúngicos para el tratamiento de infecciones por *Candida albicans*.

Desde el aspecto teórico, esta investigación se justifica ya que aporta información científica y actualizada sobre la actividad antifúngica *in vitro* del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Bidens pilosa* "Saetilla" sobre *Candida albicans*, que puede ser consultada y comparada con otras publicaciones a fin de decidir estrategias de alternativas terapéuticas.

Desde el punto de vista práctico, esta investigación abre camino a la industria farmacéutica a diseñar nuevos fármacos con actividad terapéutica a base de productos naturales con actividad farmacológica comprobada, a los químicos farmacéuticos a desarrollar y emprender alternativas de negocios con productos naturales.

Desde el punto de vista metodológico, se utilizó una técnica validada por su eficiencia y eficacia en la determinación de sensibilidad de especies patógenas, reconociendo que es la más adecuada para estos fines.

Finalmente, esta investigación es importante ya que pone a la luz una especie poco conocida que puede ser empleada de forma natural o tecnificada en el tratamiento de la candidiasis y porque no de otras enfermedades.

El objetivo general de la investigación es demostrar la actividad antifúngica *in vitro* del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Bidens pilosa* "Saetilla" sobre *Candida albicans*.

Como hipótesis de esta investigación se plantea: El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Bidens pilosa* "Saetilla" presentan actividad antifúngica *in vitro* sobre *Candida albicans*.

## II. MATERIALES Y MÉTODOS

### 2.1 Enfoque y diseño de la investigación

En esta investigación, el enfoque empleado fue cuantitativo, el tipo de diseño metodológico fue una investigación experimental y transversal.

El enfoque fue cuantitativo ya que para deducir el comportamiento de las variables fue necesario utilizar parámetros estadísticos a partir de información numérica obtenida en la parte experimental; el tipo de diseño metodológico fue experimental ya que las variables fueron operadas a discreción del experimentador y manipuladas para la observación de los resultados en función a los diferentes grupos de trabajo, asimismo fue cuantitativa ya que existió un grupo control donde las variables fueron manipuladas por los investigadores, por lo tanto, se observaron los fenómenos resultantes de la interacción de las variables<sup>26-27</sup> y finalmente fue transversal ya que, según el esquema de trabajo, se recolectó la información en un solo momento.

### 2.2 Población, muestra y muestreo

Para esta investigación fue necesario obtener 8 kilos de hojas de *Bidens pilosa* “Saetilla” los cuales fueron recolectados en el Distrito de Vinchos - Provincia: Huamanga – Departamento de Ayacucho a 3,127 metros de altitud. Este distrito se encuentra en las coordenadas: Latitud 13.2419 (13°- 14'- 31''sur) y longitud 74.3544 (74°- 21"- 16''oeste), la cual fue identificada y clasificada por el consultor botánico José R. Campos de la Cruz (CBP 3795) y cuyo certificado correspondiente se encuentra en el Anexo A.

Luego de la selección se contó con 2 kilos de muestra en las mejores condiciones con las cuales se procedió a realizar el extracto.

Para este estudio de actividad antifúngica se utilizó cepas activas de *Candida albicans* cuya codificación fue ATCC 90028 proporcionada por el Instituto de Investigación Traslacional y Biotransversal AYRU.

El presente muestreo respondió a un modelo de tipo no probabilístico por conveniencia.

Criterio de inclusión: solo se utilizaron aquellas hojas que presentaron características en común como son el tamaño, la forma, el aspecto externo priorizando la no presencia de daño por insectos o el medio ambiente.

Criterio de exclusión: Las hojas que no presenten las características mencionadas, así como la presencia de deterioro o daño evaluado por el investigador.

### 2.3 Variables de investigación

**Variable independiente:** Extracto hidroalcohólico de las hojas de *Bidens pilosa* “Saetilla”.

**Definición conceptual:** Macerado elaborado a partir de hojas de *Bidens pilosa* “Saetilla” en solución hidroalcohólica que presenta propiedades relacionadas con los metabolitos secundarios de la planta <sup>33</sup>.

**Definición operacional:** Las hojas de *Bidens pilosa* “Saetilla” fueron colocadas en una solución hidroalcohólica para luego el filtrado ser concentrado, con la finalidad de obtener sus metabolitos.

**Variable dependiente:** Actividad antifúngica.

**Definición conceptual.** Capacidad que tiene una sustancia para inhibir o destruir el crecimiento o reproducción de cepas de hongos <sup>30</sup>.

**Definición operacional.** Actividad antifúngica que puede ser observado mediante la medición del diámetro del halo de inhibición formado alrededor del extracto a diferentes concentraciones sobre cepas de *Candida albicans*.

### 2.4 Técnicas e instrumentos para la recolección de datos

La técnica empleada en esta investigación fue la observación ya que es la más apropiada para realizar este tipo de trabajos en el laboratorio, como instrumento de recolección de datos para la actividad antifúngica, marcha fitoquímica y

prueba de solubilidad se usó la ficha de recopilación de datos. El método de la actividad antifúngica fue la propuesta por Benavides J. (2021) <sup>29</sup>, Método de Kirby – Bauer) con su modificación con la asesoría correspondiente. Los datos de la marcha fitoquímica fueron recogidos en una ficha según modelo propuesto por Valdez N. (2019) <sup>30</sup> y la prueba de solubilidad fueron recogidos en una ficha según modelo propuesto por Garriazo A. (2019) <sup>31</sup>; ambas fichas fueron modificada por los investigadores.

## **2.5 Procedimiento para recolección de datos**

### **2.5.1 Autorización y coordinaciones previas para la recolección de datos**

Para el desarrollo de esta investigación fue necesario realizar coordinaciones previas con la universidad y el instituto de investigación donde se realizaría el procedimiento experimental. Mediante carta N°218-2022/EPFYB-UMA dirigida al director ejecutivo del Instituto de Investigación Traslacional y Biotransversal AYRU la Universidad María auxiliadora pudo presentar a los tesisistas y después de la aceptación por parte del instituto de investigación se pudo realizar con el acompañamiento respectivo de los profesionales de esa institución la elaboración del extracto, la prueba de solubilidad, la marcha fitoquímica y la actividad antifúngica. El documento que acredita dicha actividad se encuentra en el anexo D.

### **2.5.2 Aplicación de instrumento(s) de recolección de datos**

#### **a) Recolección de la muestra vegetal:**

La especie vegetal fue recolectada en el Distrito de Vinchos - Provincia: Huamanga – Departamento de Ayacucho a 3,127 metros de altitud. La muestra fue recolectada en la mañana con ayuda de un familiar de la zona, la muestra recolectada fue acondicionada en papel crepe y embaladas en cajas de cartón para su cuidadoso transporte.



**Figura 1. Recolección de la muestra vegetal**

#### **b) Elaboración del extracto**

La elaboración del extracto hidroalcohólico se realizó siguiendo las normas oficiales descritas y empleadas en otras investigaciones <sup>20</sup>. La parte experimental se realizó en el laboratorio de análisis del Instituto de Investigación Traslacional y Biotransversal AYRU, ubicado en la ciudad de Huaraz - Áncash. En el laboratorio se realizó el tratamiento de las hojas, el cual consistió en la selección, lavado y secado, luego se realizó la trituration con ayuda de un molino manual para aumentar la superficie de contacto con el solvente. Las hojas trituradas fueron colocadas en un frasco ámbar de boca ancha de un litro de capacidad al cual se agregó el solvente, una solución alcohólica al 70% y se dejó macerar por un espacio de 10 días con agitación constante en ambiente controlado <sup>20</sup>. Luego de transcurrido el tiempo, el extracto fue filtrado con papel filtro paso lento Whatman N°2 en un envase de vidrio y llevado a una estufa a 40°C por 7 días para la evaporación del solvente hasta obtener un extracto seco. Para la elaboración de las concentraciones a testear, se solubilizó el extracto con una solución de dimetil sulfóxido (DMSO) de concentración conocida. Las concentraciones preparadas fueron al 25%, 50%, 75% y 100% <sup>32</sup>.



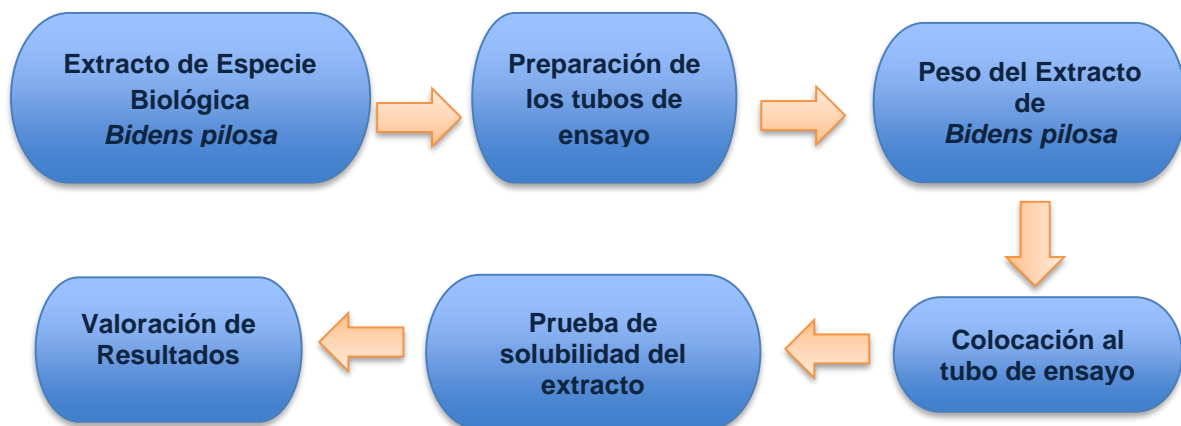
**Figura 2. Elaboración del extracto**

### c) Prueba de solubilidad

En la prueba de solubilidad se utilizaron 9 tubos de ensayo de 13x100 mm. Se pesó 0.5 g de la muestra y se colocó en cada uno de los tubos respectivos. A cada tubo de ensayo se colocó solventes de diferente polaridad.

Se agitó con ayuda de un Vortex y se observó en cuál de ellos es soluble.

La prueba de solubilidad se determinará por la leyenda: Muy soluble (+++), Moderadamente soluble (++) , Poco soluble (+), Insoluble (-). Ver Anexo A.

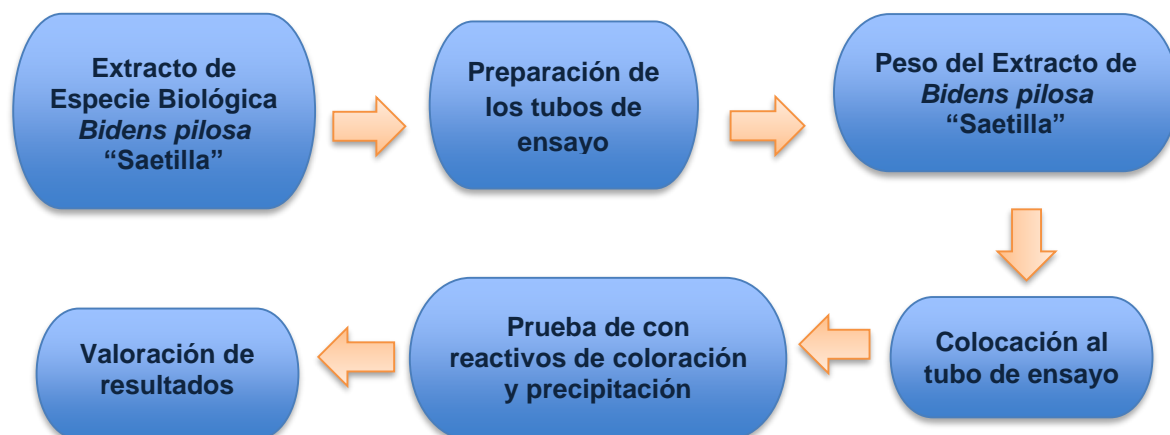


**Figura 3. Prueba de solubilidad**

### d) Marcha Fitoquímica

En un tubo de ensayo se colocó 0.5 g de extracto de *Bidens pilosa* "Saetilla" y se colocaron diferentes reactivos de coloración y precipitación. Las pruebas que se realizaron fueron: ensayo de Dragendorff, ensayo de Baljet, ensayo de Borntrager, ensayo de Liebermann-Burchard, ensayo de Ninhidrina, ensayo de

Shinoda, ensayo de antocianidinas, ensayo de espuma, ensayo de flavonoides, ensayo de compuestos fenólicos y otras. Ver Anexo A.



**Figura 4. Marcha fitoquímica**

#### **e) Actividad antifúngica según el método por difusión en agar en pozo.**

El desarrollo de la actividad antifúngica se realizó en el laboratorio de análisis del Instituto de Investigación Traslacional y Biotransversal AYRU. Ver Anexo A. La técnica empleada fue el método según Kirby - Bauer modificado o método de difusión en agar en pozo<sup>20</sup>. Para la validez de este ensayo, fue necesario realizar la prueba por triplicado. La preparación del inóculo siguió el procedimiento de Mc Farland, las cepas de *albicans* obtenidas tendrán tipificación ATCC (American Type Culture Collection), las cepas serán enriquecidas en caldo Sabouraud. Una vez alcanzada la concentración de las cepas, estas fueron sembradas en agar Müller Hilton mediante hisopo y se realizó los pocillos de 8 mm, en el cual se colocaron las soluciones a diferentes concentraciones y luego fueron llevados a la incubadora a 37°C por 24 horas para observar los halos de inhibición.<sup>33</sup> Finalmente se midieron los halos de inhibición con ayuda de un vernier y se compara con los controles correspondientes.





**Figura 5. Actividad antifúngica**

## 2.6 Procesamiento del análisis estadístico

Para el procesamiento de datos, fue necesario la utilización del programa estadístico SPSS versión 26. La prueba estadística presentó un porcentaje de confianza del 95% y margen de error del 5%. Las pruebas estadísticas realizadas fueron la media y la desviación estándar. Se realizó también el test de Shapiro-Wilk con Real Statistics de Excel y en SPSS el cual fue usado para contrastar la normalidad del conjunto de datos, la prueba de Kruskal-Wallis para determinar si cualquiera de las diferencias entre las medianas es estadísticamente significativa y la prueba de Dunn- Bonferroni para la comparación por pares entre cada grupo de muestras realizadas.

## 2.7 Aspectos éticos

Toda la información de esta investigación es absolutamente verdadera y podrá exigirse cualquier nivel de comprobación por parte de las autoridades de la universidad María Auxiliadora. Los antecedentes fueron citados correctamente a fin de no usurpar el lugar de los investigadores consultados. Esta investigación pasó el programa estadístico antiplagio Turnitin a fin de comprobar la originalidad del trabajo. De existir cualquier evento doloso en esta investigación los únicos responsables son los investigadores y acatarán cualquier penalidad propuesta por la universidad.

### III. RESULTADOS

3.1 Resultado de la prueba de solubilidad presente en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Bidens pilosa* "Saetilla"

Tabla 1. Prueba de solubilidad

SOLVENTE	RESULTADO
Agua destilada	+
Etanol 70%	++
Etanol 96%	++
Metanol	++
Alcohol etílico absoluto	+
Diclorometano	++
n-Butanol	+++
Acetato de etilo	-
Éter dietílico	-

**Leyenda:** Muy soluble (+++) - Moderadamente soluble (++) - Poco soluble (+) - Insoluble (-)

En la Tabla 1 se observan los resultados de la prueba de solubilidad donde se demostró que el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Bidens pilosa* "Saetilla" presentan mayor solubilidad con el n – Butanol a diferencia del etanol 70 %, etanol 96 %, metanol y diclorometano.

3.2 Resultado de metabolitos presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Bidens pilosa* "Saetilla"

Tabla 2. Tamizaje fitoquímico

METABOLITOS SECUNDARIOS			
METABOLITO	REACTIVO	IDENTIFICACIÓN	RESULTADO
Esteroides y Triterpenoides	Lieberman Burchard	Color verde, color azul	+++

<b>Compuestos fenólicos</b>	Tricloruro férrico	Color verde, color azul	+++
<b>Flavonoides</b>	Shinoda	Coloración a rojo	+++
<b>Taninos</b>	Gelatina	Precipitado blanco	-
<b>Cumarinas</b>	Hidróxido de sodio 10 %	Coloración amarillo intenso	+
<b>Quinonas</b>	Bortranger	Coloración a rojo	-
<b>Alcaloides</b>	Dragendorf	Precipitado rojo naranja	++
	Mayer	Precipitado blanco	+
<b>Sesquiterpenlactonas</b>	Baljet	Coloración rojo naranja	-
<b>Saponinas</b>	Agua destilada	Formación de espuma	-

#### METABOLITOS PRIMARIOS

METABOLITO	REACTIVO	IDENTIFICACIÓN	RESULTADO
<b>Glucósidos</b>	Molish	Formación de anillo violáceo	++
	Fehling A y Fehling B	Precipitado rojo ladrillo	+++
<b>Aminoácidos</b>	Ninhidrina	Coloración color violáceo	+

**Leyenda:** (+++) = Abundante; (++) = Moderado; (+) = Escaso; (-) = Ausencia

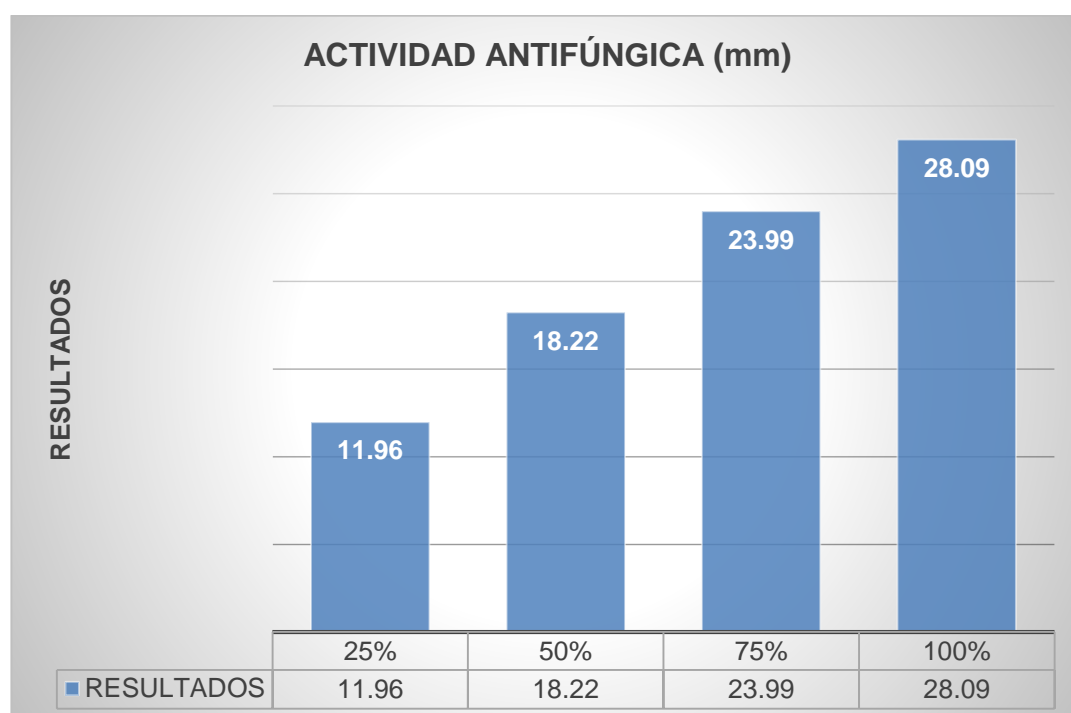
En la Tabla 2 se observan los resultados del tamizaje fitoquímico que demuestra que el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Bidens pilosa* "Saetilla", contienen en mayor concentración los metabolitos: glucósidos, esteroides y triterpenoides, compuestos fenólicos y flavonoides.

**3.3** Resultado actividad antifúngica in vitro que presenta el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Bidens pilosa* “Saetilla” sobre *Candida albicans* a diferentes concentraciones

**Tabla 3. Ensayo de la actividad antifúngica**

DETERMINACIONES	CONCENTRACIÓN DEL EXTRACTO	RESULTADOS (mm)
<b>Evaluación de la actividad antifúngica frente a <i>Candida albicans</i> ATCC 90028</b>	25%	11.96 ± 0.84
	50%	18.22 ± 0.76
	75%	23.99 ± 0.57
	100%	28.09 ± 0.83

**Legenda:** Halos de inhibición (mm), promedio ± DS



**Figura 6. Ensayo de la actividad antifúngica**

En la Tabla 3 indican los resultados del ensayo antifúngico. En los valores obtenidos presentan un incremento de actividad antifúngica a medida que la concentración del extracto se hace mayor.

**Tabla 4. Resultado de las medidas de los halos de inhibición**

PLACA PETRI	HALOS DE INHIBICIÓN (mm)					
	A	B	C	D	E	Fluconazol
1	8.02	12.37	17.22	23.46	28.53	31.56
2	8.03	12.56	17.34	22.75	27.41	32.11
3	8.02	12.44	19.26	24.31	29.22	32.14
4	8.03	12.37	18.15	24.17	27.17	31.27
5	8.01	10.17	18.37	23.96	26.94	33.68
6	8.02	10.65	18.25	23.68	27.38	33.72
7	8.01	11.39	17.48	23.72	28.31	31.82
8	8.02	11.72	17.30	23.93	28.62	33.69
9	8.03	12.81	18.29	24.71	29.14	31.21
10	8.01	12.74	19.11	24.67	27.87	31.46
11	8.02	11.96	19.34	24.63	27.36	31.72
12	8.01	12.37	18.47	23.86	29.07	33.28
<b>PROMEDIO</b>	<b>8.019</b>	<b>11.96</b>	<b>18.22</b>	<b>23.99</b>	<b>28.09</b>	<b>32.31</b>
<b>DS</b>	<b>0.01</b>	<b>0.84</b>	<b>0.76</b>	<b>0.57</b>	<b>0.83</b>	<b>1.00</b>

**Leyenda:** A = Control Etanol 70%; B = Extracto 25%; C = Extracto 50%; D = Extracto 75%; E = Extracto 100%; F = Control Fluconazol 60 mg/mL

En la tabla 4 se observó que el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Bidens pilosa* "Saetilla" en concentraciones de 50%, 75% y 100% presentan ligeros halos de inhibición de 18.22, 23.99 y 28.09 mm frente a la cepa in vitro de *candida albicans* ATCC 90028; en contraste con el fármaco antifúngico fluconazol cuyo promedio de halo de inhibición es de 32.31 mm.

Para lograr determinar el estadístico necesario y llegar al objetivo planteado es indispensable que se determine si los datos obtenidos presentan una distribución normal, para ello se determinó con la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk, por tratarse de muestras menores de 30 datos.

**Tabla 5. Resultados del Test de Shapiro-Wilk con Real Statistics de Excel**

	<b>Control Negativo: Etanol 70%</b>	<b>Extracto 25%</b>	<b>Extracto 50%</b>	<b>Extracto 75%</b>	<b>Extracto 100%</b>	<b>Control Positivo: Fluconazol</b>
<b>W-stat</b>	0.82	0.85	0.91	0.94	0.90	0.83
<b>p-value</b>	<b>0.02</b>	<b>0.04</b>	<b>0.19</b>	<b>0.48</b>	<b>0.18</b>	<b>0.02</b>
<b>alpha</b>	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
<b>normal</b>	no	no	yes	yes	yes	no

Los resultados de la prueba de Shapiro-Wilk se muestran en la Tabla 5, indican que los datos obtenidos en el tratamiento con extracto a 50, 75 y 100% no siguen una distribución normal. Sin embargo, el control positivo, negativo y extracto a una concentración de 25% siguen una distribución normal. Esto nos indica que los tratamientos son diferentes entre sí en términos de la variable de interés, independientemente de su distribución.

**Tabla 6. Test de Shapiro-Wilk en SPSS**

	<b>Estadístico</b>	<b>gl</b>	<b>Sig.</b>
<b>Control negativo: Etanol 70%</b>	0.824	12	0.018
<b>Extracto 25%</b>	0.853	12	0.040
<b>Extracto 50%</b>	0.906	12	0.189
<b>Extracto 75%</b>	0.939	12	0.483
<b>Extracto 100%</b>	0.904	12	0.181
<b>Control positivo: Fluconazol 60 mg/mL</b>	0.834	12	0.023

Al no presentar una distribución normal, no se usó ANOVA para verificar si existe diferencia significativa entre alguno de los tratamientos. Se usó la prueba de

Kruskal-Wallis (para pruebas no paramétricas) que es su equivalente del ANOVA cuando los datos presentan distribución normal.

**Tabla 7. Prueba de Kruskal-Wallis**

	<b>Control Negativo: Etanol 70%</b>	<b>Extracto 25%</b>	<b>Extracto 50%</b>	<b>Extracto 75%</b>	<b>Extracto 100%</b>	<b>Control Positivo: Fluconazol</b>	
<b>median</b>	8.02	12.37	18.27	23.945	28.09	31.965	
<b>p-value</b>							<b>1.5898E-13</b>
<b>alpha</b>							<b>0.05</b>
<b>sig</b>							<b>Sí</b>

Como se muestra en la Tabla 7, los resultados de la prueba de Kruskal-Wallis indicaron que al menos uno de los tratamientos es significativamente diferente de los otros tratamientos.

**Tabla 8. Prueba de Dunn- Bonferroni**

<b>Grupo 1</b>	<b>Grupo 2</b>	<b>R-mean</b>	<b>std err</b>	<b>z-stat</b>	<b>R-crit</b>	<b>p-value</b>
<b>Control Negativo: Etanol 70%</b>	Extracto 25%	12	8.54	1.40	16.74	<b>0.16</b>
<b>Control Negativo: Etanol 70%</b>	Extracto 50%	24	8.54	2.81	16.74	0.005
<b>Control Negativo: Etanol 70%</b>	Extracto 75%	36	8.54	4.21	16.74	2.50E-05
<b>Control Negativo: Etanol 70%</b>	Extracto 100%	48	8.54	5.62	16.74	1.91E-08
<b>Control Negativo: Etanol 70%</b>	Control Positivo: Fluconazol	60	8.54	7.02	16.74	2.15E-12
<b>Extracto 25%</b>	Extracto 50%	12	8.54	1.40	16.74	<b>1.60E-01</b>
<b>Extracto 25%</b>	Extracto 75%	24	8.54	2.81	16.74	4.96E-03
<b>Extracto 25%</b>	Extracto 100%	36	8.54	4.21	16.74	2.50E-05

<b>Extracto 25%</b>	Control Positivo: Fluconazol	48	8.54	5.62	16.74	1.91E-08
<b>Extracto 50%</b>	Extracto 75%	12	8.54	1.40	16.74	<b>1.60E-01</b>
<b>Extracto 50%</b>	Extracto 100%	24	8.54	2.81	16.74	4.96E-03
<b>Extracto 50%</b>	Control Positivo: Fluconazol	36	8.54	4.21	16.74	2.50E-05
<b>Extracto 75%</b>	Extracto 100%	12	8.54	1.40	16.74	<b>1.60E-01</b>
<b>Extracto 75%</b>	Control Positivo: Fluconazol	24	8.54	2.81	16.74	4.96E-03
<b>Extracto 100%</b>	<b>Control Positivo:</b> Fluconazol	12	8.54	1.40	16.74	<b>1.60E-01</b>

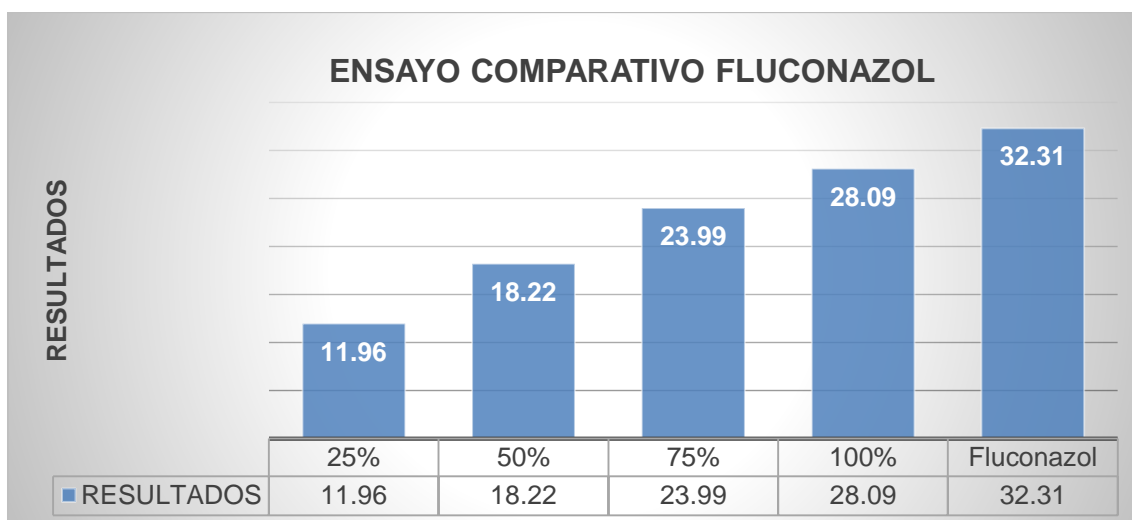
Como se muestra en la Tabla 8 se realizó un análisis de comparaciones múltiples como la prueba Dunn - Bonferroni que nos permitió controlar el error tipo I en las comparaciones múltiples.

En esta tabla se muestra 15 comparaciones entre dos grupos de tratamientos de los cuales 10 de ellos presentaron diferencias significativas y los 5 restantes no. En esta investigación las comparaciones de interés son aquellas que no presentaron diferencia significativa frente al tratamiento positivo, en tal caso es el siguiente tratamiento: Extracto hidroalcohólico de las hojas de *Bidens pilosa* "Saetilla" a una concentración de 100% no presenta diferencia significativa con el Control Fluconazol 60 mg/mL; esto significa que se puede sustituir al Fluconazol 60 mg/mL por el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Bidens pilosa* "Saetilla" a una concentración de 100%.



**Tabla 9. Grado de efectividad in vitro del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Bidens pilosa* “Saetilla” sobre *Cándida albicans* en comparación con fluconazol**

DETERMINACIONES	CONCENTRACIÓN DEL EXTRACTO	RESULTADOS (mm)
Evaluación de la actividad antifúngica frente a <i>Candida albicans</i> ATCC 90028	25%	11.96 ± 0.84
	50%	18.22 ± 0.76
	75%	23.99 ± 0.57
	100%	28.09 ± 0.83
	<b>Fluconazol 60mg/ml</b>	<b>32.31 ± 1.0</b>



**Figura 7. Ensayo comparativo con el Fluconazol**

En la Tabla 9 se observa que el crecimiento de *Candida albicans* es inhibido lentamente por extractos hidroalcohólicos de las hojas de *Bidens pilosa* “Saetilla” en todas sus concentraciones. Se aprecia también que el fluconazol afecta muy notoriamente el desarrollo del hongo en estudio.

## IV. DISCUSIÓN

### 4.1 Discusión de resultados

La actividad antifúngica de las plantas medicinales ha sido ampliamente estudiada debido a su potencial terapéutico en el tratamiento de infecciones fúngicas. La búsqueda de compuestos naturales con propiedades antifúngicas es de gran interés debido a la creciente resistencia a los medicamentos antifúngicos convencionales. En este sentido, numerosos estudios han investigado la actividad antifúngica de diversas plantas medicinales y sus extractos. La diversidad de compuestos bioactivos presentes en las plantas medicinales puede contribuir a su actividad antifúngica. Estos compuestos incluyen alcaloides, flavonoides, terpenoides, taninos y otros metabolitos secundarios, los cuales pueden tener propiedades inhibitoras sobre el crecimiento y la viabilidad de los hongos patógenos. Algunos ejemplos de plantas medicinales conocidas por su actividad antifúngica incluyen el ajo (*Allium sativum*), el orégano (*Origanum vulgare*), el tomillo (*Thymus vulgaris*), la equinácea (*Echinacea purpurea*) y la cúrcuma (*Curcuma longa*), entre muchas otras.

Los estudios in vitro han demostrado que los extractos de plantas medicinales pueden inhibir el crecimiento de diversos hongos patógenos, incluyendo especies de *Candida*, *Aspergillus* y *Trichophyton*, entre otros. Estos extractos han mostrado actividad fungicida o fungistática, dependiendo de la concentración y el tipo de extracto utilizado. Además, se ha observado que algunos extractos de plantas pueden actuar sinérgicamente con medicamentos antifúngicos convencionales, lo que sugiere su potencial uso como terapias combinadas para combatir las infecciones fúngicas.

Sin embargo, es importante destacar que los mecanismos exactos de acción de los compuestos presentes en las plantas medicinales no siempre están completamente claros. Algunos estudios sugieren que estos compuestos pueden afectar la integridad de la membrana celular de los hongos, interferir con la síntesis de la pared celular o inhibir enzimas clave involucradas en el metabolismo fúngico. Sin embargo, se requiere una investigación adicional para

comprender completamente los mecanismos subyacentes y optimizar la aplicación de las plantas medicinales como agentes antifúngicos.

La actividad antifúngica de las plantas medicinales también puede variar dependiendo de factores como la parte de la planta utilizada, las condiciones de cultivo, el método de extracción y la concentración de los extractos. Por lo tanto, es necesario realizar estudios de calidad y estandarización para garantizar la eficacia y seguridad de los productos a base de plantas.

Al realizar la prueba de solubilidad, se ha podido demostrar que el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Bidens pilosa* "Saetilla" es muy soluble en n-Butanol, moderadamente soluble en etanol al 96°, 70°, metanol, diclorometano, poco soluble en agua destilada, alcohol etílico absoluto e insoluble en acetato de etilo y éter dietílico. Estos resultados son similares a los hallados por Mamani T. y Quispe P. que en el año 2022 reportaron que esta planta presenta solubilidad en derivados alcohólico y agua destilada, Cieza C. Ucancial H. en el 2021 reportó que el extracto presenta solubilidad importante en alcohol etílico, agua destilada, no presenta solubilidad en solventes apolares y Oladipupo A. en 2015 demostró resultados de solubilidad en solventes polares y no en apolares.<sup>17, 19, 23</sup>

Al realizar la evaluación de metabolitos, se ha podido demostrar que el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Bidens pilosa* "Saetilla" presentan abundantes glucósidos, esteroides y triterpenoides, compuestos fenólicos, flavonoides, asimismo, moderada cantidad de alcaloides y escasos aminoácidos y cumarina. Estos estudios pueden compararse a los realizados por Oladipupo A. 2015, quien estudio la misma planta encontrando la presencia de alcaloides, flavonoides, taninos, esteroides, terpenos y glucósidos, Mamani T. y Quispe P. 2022 encontraron alcaloides, compuestos fenólicos y flavonoides en mayor cantidad. Al parecer los compuestos presentes pueden ser los responsables del efecto sobre *Candida albicans*<sup>23,17</sup>.

Al evaluar la actividad antifúngica in vitro que presenta el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Bidens pilosa* "Saetilla" sobre *Candida albicans* a diferentes concentraciones, se ha podido determinar que todas las concentraciones presentaron la formación del halo de inhibición, para la concentración al 25%

(11.96 ± 0.84 mm), la concentración al 50% (18.22 ± 0.76), la concentración al 75% (23.99 ± 0.57mm) y la concentración al 100% (28.09 ± 0.83). Para la concentración al 75% y 100% es un buen performance ya que este hongo es susceptible a compuestos que tenga un halo de inhibición de  $\geq 20.00$ mm. Estos resultados se pueden comparar con los hallados por Mamani T. y Quispe P. 2022 quienes demostraron que todas sus concentraciones del aceite de hojas y tallos *Bidens pilosa* L sobre *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* inhibieron el crecimiento bacteriano, Alonso E. 2019 mencionó que el extracto acuoso de las hojas de *Bidens pilosa* en *Staphylococcus aureus* fue susceptible a la concentración de 20%, (21mm). No se comparan con los estudios hallados por Oladipupo A. (Nigeria 2015) quien publicó que la concentración al 75% de extracto acuoso de las hojas, tallo y raíz de *Bidens pilosa* solo alcanzó 11.5mm de diámetro de inhibición haciendo resistente <sup>17,21,23</sup>.

Al evaluar el grado de efectividad in vitro del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Bidens pilosa* “Saetilla” sobre *Cándida albicans* en comparación con fluconazol, podemos indicar que el control realizado con fluconazol desarrolló una mayor susceptibilidad sobre *Candida albicans*, reportando un halo de inhibición de 32.31mm a diferencia de la mejor concentración del extracto (100%) que alcanzo 23.99mm. Sin embargo, nos ratificamos que la concentración al 75% y 100% del Extracto hidroalcohólico de las hojas de *Bidens pilosa* “Saetilla” tienen actividad antifúngica.

Finalmente, podemos agregar que las plantas medicinales representan una valiosa fuente de compuestos bioactivos con actividad antifúngica. Su potencial terapéutico en el tratamiento de infecciones fúngicas ha sido reconocido y estudiado en numerosas investigaciones. Sin embargo, se necesita más investigación para comprender completamente los mecanismos de acción, optimizar las formulaciones y evaluar la eficacia clínica de las plantas medicinales

## 4.2 Conclusiones

- Al evaluar la solubilidad que presentó el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Bidens pilosa* "Saetilla" sobre diferentes solventes, podemos afirmar que esta es buena y se presenta tanto en solventes polares en su mayoría derivados de alcoholes de cadena corta y agua.
- Al realizar la Identificación de metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Bidens pilosa* "Saetilla" podemos evidenciar la presencia de glucósidos, aminoácidos, esteroides y terpenoides, compuestos fenólicos, flavonoides, cumarinas y alcaloides. Estos metabolitos pueden ser responsables de la actividad antifúngicas ya que en otras investigaciones se le otorga esta propiedad.
- El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Bidens pilosa* "Saetilla" sobre *Cándida albicans* a diferentes concentraciones, como al 75% (23.99 mm) y al 100% (28.09 mm) presentan actividad semejante a la del Fluconazol.

### 4.3. Recomendaciones

- Recomendar a la Universidad María Auxiliadora a seguir motivando la investigación entre sus estudiantes a fin de contribuir científicamente al progreso de nuestro país.
- Proponer a la Universidad María Auxiliadora la colaboración con los docentes a fin de publicar los trabajos experimentales realizados en su casa de estudio en revistas indexadas a fin de difundir y dar a conocer los resultados de esta y otras investigaciones.
- Motivar a los estudiantes a convertirse en investigadores realizando trabajos bajo la dirección de sus docentes con la finalidad de producir artículos e información novedosa sobre diferentes temas de las líneas de investigación.
- Incentivar a los investigadores a realizar más estudios sobre la especie de *Bidens pilosa* de diferentes localidades a fin de conocer las potencialidades que tiene esta planta.
- Recomendar a los Profesionales Químicos Farmacéuticos a estudiar con mayor profundidad esta planta y muchas más que forman parte del laboratorio natural de nuestro país a fin de descubrir nuevas acciones farmacológicas que puedan ayudar a combatir enfermedades.
- A la sociedad, a leer todos los trabajos de investigación que se desarrollan en el país a fin de conocer más sobre nuestros recursos naturales terapéuticos y poder utilizarlos posteriormente.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. - Lemonovich T L. Mold infections in solid organ transplant recipients. *Infect Dis Clin North Am.* 2018; 32: 687-701. URI: 10.1016/j.idc.2018.04.006.
2. - Douglas A P, Chen S C A, Slavin M A. Emerging infections caused by non-*Aspergillus* filamentous fungi. *Clin Microbiol Infection* 2016; 22: 670-80. URI: <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2016.01.011>
3. - García-Ruiz J C, Amutio E, Ponton J. Invasive fungal infection in immunocompromised patients. *Rev Iberoam Micol.* 2004; 21: 55-62. PMID:15538828.
- 4.- Wisplinghoff H, Bischoff T, Tallent SM, Seifert H, Wenzel RP, Edmond MB. Nosocomial bloodstream infections in US hospitals: analysis of 24,179 cases from a prospective nationwide surveillance study. *Clin Infect Dis.* 2004; 39 (3):309-17. URI://[www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15306996](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15306996)
- 5.- Pemán J, Cantón E, Quindós G, Eraso E, Alcoba J, Guinea J, et al. Epidemiology, species distribution and in vitro antifungal susceptibility of fungaemia in a Spanish multicentre prospective survey. *J Antimicrob Chemother.* 2012; 67 (5):1181-7. URI: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22351683>
- 6.- . Chen S, Slavin M, Nguyen Q, Marriott D, Playford EG, Ellis D, et al. Active surveillance for candidemia, Australia. *Emerg Infect Dis.* 2006; 12 (10):1508-16. URI: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3290948/>
- 7.- Yapar N, Pullukcu H, Avkan-Oguz V, Sayin-Kutlu S, Ertugrul B, Sacar S, et al. Evaluation of species distribution and risk factors of candidemia: A multicenter case-control study. *Med Mycol.* 2011; 49 (1):26-31. URI: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20662635>
- 8.- Hermsen ED, Zapapas MK, Maiefski M, Rupp ME, Freifeld AG, Kalil AC. Validation and comparison of clinical prediction rules for invasive candidiasis in intensive care unit patients: a matched case-control study. *Crit Care.* 2011;15(4). URI: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3387640/>

- 9.- Rodriguez L, Bustamante B, Huaroto L, Agurto C, Illescas R, Ramirez R, et al. A multi-centric Study of bloodstream infection in Lima-Callao, Peru: Species distribution, antifungal resistance and clinical outcomes. PLoS One. 2017;12(4).  
URI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0175172>
10. - Pardi G. Determinantes de Patogenicidad de *Albicans*: (Revisión Bibliográfica). Acta Odontológica Venezolana. junio de 2002;40(2):185-192.
- 11.- Alonso E. Efecto antibacteriano in vitro del extracto acuoso de hojas de *Bidens pilosa* (Cadillo) frente a *Staphylococcus aureus*. Tesis para optar el título profesional de químico farmacéutico en la Universidad Católica los Ángeles – Chimbote. Perú. 2019.  
URI://repositorio.uladech.edu.pe/bitstream/handle/123456789
- 12.- Reisancho L. Influencia del método de extracción del aceite esencial de hojas de amor seco (*Bidens pilosa* L.) en la actividad antimicrobiana. Tesis para la obtención del Título de Química Farmacéutica de la Universidad Central del Ecuador. 2019 <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/18659/1/T-UCF-0008-CQU126.pdf>
- 13.- Cáceres n. Evaluación del efecto antibacteriano “in vitro” del extracto etanólico del mishico (*Bidens andicola*) sobre *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. (tesis para obtener el título profesional de químico farmacéutico) universidad andina de juliaca – Perú, 2019. (citado en 13 de diciembre 2019) URI: <http://repositorio.uancv.edu.pe/handle/uancv/4053>
- 14.- Pineda J., Cortes A., Uribarren., T. et al. Candidosis vaginal. primera parte: revisión de la clínica, epidemiología y situación de México. Rev. Méd. Risaralda. 2015
- 15.- Yauri B. Chambilla E. Actividad antimicótica del extracto ETANÓLICO DE *Chenopodium ambrosioides* L. (Paico), Sobre *albicans* Cepa ATCC 10231. [Tesis para optar el título profesional de Químico Farmacéutico] Universidad Autónoma del Sur]. Facultad de Ciencias de la Salud. 2018



16.- Soliman S, Semreen M, El-Keblawy, Abdullah A, Uppuluri P, Ibrahim A. Assessment of herbal drugs for promising anti- activity. BMC Complement Altern Med 2017 8; 17(1):257.

17.- Mamani T. Quispe P. Determinación de la actividad antibacteriana in vitro del aceite esencial de *Bidens pilosa* L. (Chipaca) FRENTE A *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. [Tesis para optar el título profesional de Químico Farmacéutico] Universidad María Auxiliadora. Facultad de Ciencias de la Salud. 2022

18.- Castillo R. Efectividad antimicótica del aceite esencial *Origanum vulgare* sobre *albicans* ATCC 10231 [Tesis para optar el título profesional de Cirujano Dentista] Universidad Norbert Wiener. Facultad de Ciencias de la Salud. 2021

19.- Cieza C. Ucancial H. (2021) evaluaron la actividad antibacteriana del extracto alcohólico de las hojas secas de *Bidens pilosa* sobre *Escherichia coli* y *Salmonella entérica*. [Tesis para optar el título profesional de Químico Farmacéutico] Universidad María Auxiliadora. Facultad de Ciencias de la Salud. 2021

20.- Bok Y. Egusquiza E. Actividad antimicótica in vitro del extracto acuoso del fruto de *Passiflora tripartita* (Juss.) Poir. Var. *mollissima* (Kunth) Holm-Niels. & P. Jorg. (TUMBO) sobre cepas de *albicans* y *tropicalis* [Tesis para optar el título profesional de Químico Farmacéutico] Universidad Inca Garcilaso de la Vega. Facultad de Farmacia y Bioquímica. 2019

21.- Alonzo E. Efecto antibacteriano in vitro del extracto acuoso de hojas de *Bidens pilosa* (Cadillo) frente a *Staphylococcus aureus*. [Tesis para optar el título profesional de Químico Farmacéutico] Universidad Católica los Ángeles. Facultad de Ciencias de la Salud. 2019

22.- Anselmo R. actividad antimicótica del extracto etanólico de las hojas de *Lomanthus truxillensis* cabrera en cepas de *albicans* ATCC 10231 y *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404, in vitro. [Tesis para optar el título profesional de Químico Farmacéutico y Bioquímico]. Universidad Inca Garcilaso de la Vega. 2018.

- 23.- Oladipupo A. Actividad antibacteriana in vitro del extracto acuoso de *Bidens pilosa* L (Asteraceae) procedentes de Nigeria. Investigación realizada por el Departamento de Química de la Universidad Estatal de Lagos. Nigeria. 2015. (Citado en 23 de octubre 2022)
- 24.- Jaramillo C. Actividad antifúngica y antibacteriana in vitro del extracto etanólico de *Usnea laevis* frente a *Cándida albicans*, *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*. Rev Med Hered. 2020; 31:169-174 Quito, Ecuador. 2020.[http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1018-130X2020000300169](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1018-130X2020000300169)
- 25.- Ferreira M. Palomari D. Coradi C. Serignoli R. Actividad antifúngica de a-terpinen en *Candida albicans*. Rdo. estomatol Herediana vol.29 No.2 Sao Paulo Brasil. 2019. [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1019-43552019000200002](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1019-43552019000200002)
- 26.- Muñoz C. Como elaborar y asesorar una tesis de investigación. Segunda Ed. Gaona L, Hernández F, editors. Pearson Educacion, S.A.; 2016.
- 27.- Anonimo. El diseño de investigación experimental [Internet]. 2016. Available from: [http://histologia.ugr.es/pdf/Metodologia\\_III.pdf](http://histologia.ugr.es/pdf/Metodologia_III.pdf)
- 28.- Hernández C, Carpio N. Introducción a los tipos de muestreo. Revista Científica del Instituto Nacional de Salud “Alerta” [Internet]. 2019;2(1):75–9. Available from: <https://alerta.salud.gob.sv/introduccion-a-los-tipos-de-muestreo/>
- 29.- Benavides J, Coñez J. Efecto antibacteriano, in vitro, del extracto hidroalcohólico de *Vaccinium corymbosum* L. (arándanos) en cepas de *Streptococcus pyogenes*” [Internet]. 2021. Available from: <https://repositorio.uoosevelt.edu.pe/bitstream/handle/ROOSEVELT/469/TESIS%20Joscelin%20y%20Jessica.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- 30.- Valdez N, Tambini J. Efecto antimicótico in vitro del extracto etanólico de *Vaccinium corymbosum* L. (arándanos) en cepas de *albicans* [Internet]. 2019. URL:[http://repositorio.uigv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.11818/5204/TESIS\\_VALDEZ%20HINOSTROZA%20%20TAMBINI%20P%C3%89REZ.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.uigv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.11818/5204/TESIS_VALDEZ%20HINOSTROZA%20%20TAMBINI%20P%C3%89REZ.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

- 31.- Garriazo C, Ingaruca G. Determinación de la actividad antioxidante y citotóxica del extracto hidroalcohólico del fruto de *Vaccinium corymbosum* (arandano) proveniente de cañete [Internet]. 2019. URI: <http://209.45.52.21/bitstream/handle/unid/42/5%20GARRIAZO%20RIPAS%20e%20INGARUCA%20SALAZAR.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- 32- Salomón S, López O, González ML. Desarrollo de una tecnología para la obtención de extracto acuoso de *Momordica charantia* L. *Rev Cubana Plant Med.* 2011; 16 (4): 304- 312. <http://www.scielo.org.pe/pdf/rsqp/v81n3/a10v81n3.pdf>
- 33.- Jaramillo C. Evaluación de la actividad antifúngica del extracto de *Usnea laevis* en hongos fitopatógenos. *Bol Micol.* 2018; 33(1): 1-8. DOI: 10.22370/bolmicol.2018.33.1.1091
- 34.- Guzmán-González, S., Alarcón-Paredes, A., López-Gómez, R., & del Rayo Camacho-Corona, M. Antifungal activity of *Bidens pilosa* L. (Asteraceae) ethanol extracts against *Candida albicans*: A scanning electron microscopy study Año: 2017. Fuente: *Journal of Medicinal Plants Research*, 11(28), 431-438. doi: 10.5897/JMPR2017.6372


## **ANEXOS**

## ANEXO A: Certificados empleados en la realización del trabajo de investigación.

- Certificado de identificación botánica

<p>JOSÉ R. CAMPOS DE LA CRUZ CONSULTOR BOTÁNICO C. B. P. 3796 Cel: 963689079 Email: jrcamde@gmail.com</p>	
<h3>CERTIFICACION DE IDENTIFICACION BOTANICA</h3> <p>JOSÉ RICARDO CAMPOS DE LA CRUZ, BIÓLOGO COLEGIADO, COP 3796 - INSCRITO EN EL REGISTRO DE PROFESIONALES QUE REALIZAN CERTIFICACIONES DE IDENTIFICACION TAXONÓMICA DE ESPECIMENES Y PRODUCTOS DE FLORA - RESOLUCIÓN DIRECTORIAL N.º 020-2003-MINAGRI-DEPYS-027115.</p> <p><b>CERTIFICA:</b></p> <p>Que, MAÑUICO FLORES, MARILYN Y PUMA ACHULLA, SOLVI MARITZA, tesis de la Universidad María Auxiliadora, Facultad de Ciencias de la Salud, Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, con fines de investigación han solicitado la identificación y certificación botánica de una planta conocida con el nombre vulgar de "amor seco", la muestra fértil, ha sido estudiada e identificada con el nombre científico de <i>Bidens pilosa</i> L. Según la base de datos de W<sup>3</sup>Tropicos DEL Missouri Botanical Garden que sigue el sistema moderno de clasificación de las angiospermas (APG), publicado en 1998 por el Grupo para la Filogenia de las Angiospermas, revisado por APG II (2003), APG III (2009) y APG IV (2016), el sistema APG evita el uso de la nomenclatura taxonómica clásica por arriba de orden. Mark W. Chase &amp; James L. Reveal en APG III (2009) consideran a todas las plantas verdes en la Clase Equisetopsida. Teniendo en cuenta los datos de la base de W<sup>3</sup>Tropicos, la especie identificada tiene las siguientes categorías taxonómicas y clados:</p> <p>Reino: Plantae División: Angiospermae Clase: Equisetopsida Subclase: Magnoliidae Superorden: Asterales Orden: Asterales Familia: Asteraceae Género: <i>Bidens</i> Especie: <i>Bidens pilosa</i> L.</p> <p>Nombre vulgar: "amor seco"</p> <p>Se expide la presente certificación con fines de investigación científica.</p> <p style="text-align: right;">Lima, 12 de febrero del 2023</p> <div style="text-align: center;"> José R. Campos de la Cruz BIÓLOGO C. B. P. 3796</div> <p style="text-align: center;">Jr. Sánchez Sotelo 356 - Piso 2 - Urb. Santa Luzmila - Lima 07 - Lima</p>	

- Certificado del Agar utilizado para la investigación



Page 1 of 2

## CERTIFICATE OF ANALYSIS

<b>PRODUCT</b>	CM0041B SABOURAUD DEXTROSE AGAR 500g	<b>Delivery/Customer information</b>	
<b>LOT NUMBER</b>	3345356	Date Printed 2023.05.12	
<b>EXPIRY DATE</b>	2026.09.30	Delivery No.	
<b>DATE OF MANUFACTURE</b>	2021.08.23	Customer Customer Order Number	


Physical Characteristics	Results	Specification
Appearance	Straw powder	Straw powder
Colour on reconstitution	Straw 2	Straw 1-2
pH (25°C)	5.7	5.4 - 5.8
Clarity	Clear	Clear

Microbiological Performance	Control cfu	Test cfu	Recovery Test %	Description
<b>Aerobic incubation at 20-25°C for up to 5 days</b>				
<i>Saccharomyces carlsbergensis</i> ATCC®2700	13	16	123	Cream, domed cols
<i>Candida albicans</i> ATCC®10231	26	23	88	Cream, domed cols
<i>Aspergillus brasiliensis</i> ATCC®16404	31	36	116	White mycelia, black spores
<b>Testing has been performed in accordance with ISO11133:2014</b>				
<b>Aerobic incubation at 25 ± 2°C for 5 days</b>				
<i>S. cerevisiae</i> ATCC®9763 WDCM00058	102	112	110	Cream, domed cols
<i>A. brasiliensis</i> ATCC®16404 WDCM00053	61	75	123	White mycelia, black spores

Control Medium: Sabouraud Dextrose Agar

A satisfactory result is represented by recovery of positive strains equal to or greater than 70% of the control medium. Refer to product specification for full details.



Tested by the Quality Control Laboratory  
OXOID LIMITED

Wade Road, Basingstoke, Hampshire RG24 8PW. England  
oxid@thermofisher.com www.oxid.com

FDA Reg No. 801006

Certificate No. FM 09914




- Certificado de la Cepa utilizada para la investigación



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

<b>Specifications</b> <b>Microorganism Name:</b> Candida albicans <b>Catalog Number:</b> 0264 <b>Lot Number:</b> 264-36** <b>Reference Number:</b> ATCC® 90028™* <b>Passage from Reference:</b> 2	<b>Expiration Date:</b> 2023/3/31 <b>Release Information:</b> <b>Quality Control Technologist:</b> Alexandra D Quevi <b>Release Date:</b> 2021/4/23
--	--

Performance	
<b>Macroscopic Features:</b> Small to medium, circular, convex, entire edge, cream, glistening, opaque. <b>Microscopic Features:</b> Gram positive, ovoid, budding yeast cells.	<b>Medium:</b> Nutrient <b>Method:</b> Gram Stain (1)
<b>ID System:</b> MALDI-TOF (1) See attached ID System results document.	<b>Other Features/ Challenges: Results</b> (1) Germ Tube Test: positive (1) Chlamydospore production: positive Fluconazole (Etest MIC - mcg/mL): 0.125 - 0.5   Amanda Kuperus Director of Quality Control AUTHORIZED SIGNATURE

\*\*Disclaimer: The last digit(s) of the lot number appearing on the product label and packing slip are merely a packaging event number. The lot number displayed on this certificate is the actual base lot number.

⚠ Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information.

Individual products are traceable to a recognized culture collection.




(\*) The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC. Microbiologics, Inc. is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures.

(1) These tests are accredited to ISO/IEC 17025.



- Certificado de la Cepa utilizada para la investigación

**Bruker Daltonik MALDI Biotyper Classification Results**



**Meaning of Score Values**

Range	Interpretation	Symbols	Color
2.00 – 3.00	High-confidence identification	(+++)	green
1.70 – 1.99	Low-confidence identification	(+)	yellow
0.00 – 1.69	No Organism Identification Possible	(-)	red

**Meaning of Consistency Categories (A - C)**

Category	Interpretation
(A)	<b>High consistency:</b> The best match is a high-confidence identification. The second-best match is (1) a high-confidence identification in which the species is identical to the best match, (2) a low-confidence identification in which the species or genus is identical to the best match, or (3) a non-identification.
(B)	<b>Low consistency:</b> The requirements for high consistency are not met. The best match is a high- or low-confidence identification. The second-best match is (1) a high- or low-confidence identification in which genus is identical to the best match or (2) a non-identification.
(C)	<b>No consistency:</b> The requirements for high or low consistency are not met.

Run Creation Date/Time: 2021-04-12T16:45:03.255 adq  
 Applied MSP Library(ies): BDAL, Mycobacteria Library (bead method), Filamentous Fungi Library

Sample Name	Sample ID	Organism (best match)	Score Value
D4 (+++) (B)	264-36	Candida albicans	2.14

Comments:

n/a
-----

- Prueba de solubilidad



INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN TRASLACIONAL Y BIOTRANSVERSAL AYRU

**II. RESULTADOS DE LA PRUEBA DE SOLUBILIDAD DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LAS HOJAS DE SAETILLA**

SOLVENTE	RESULTADO
Agua destilada	+
Etanol 70%	++
Etanol 96%	++
Metanol	++
Alcohol etílico absoluto	+
Diclorometano	++
n-Butanol	+++
Acetato de etilo	-
Éter dietílico	-

  
 Marley Pier Capcha Siocha  
 Químico Farmacéutico  
 C.B.P.P. 2075

- Marcha fitoquímica



INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN TRASLACIONAL Y BIOTRANSVERSAL AYRU

INFORME DE ANÁLISIS AYRU N° 126-2023

Emitido en Huancayo, el 07 de marzo del 2023

Orden de Trabajo	: 107-2023
Número de servicio	: 116-2023-AYRU
Nombre del Solicitante	: Bach. Marilyn Mañuca Flores
Dirección	: Píscomayo, Huancayo
Dirección	: Distrito de Vinchos, provincia de Huamanga, Ayacucho
Servicio solicitado	: Tamizaje fitoquímico y prueba de solubilidad del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Bidens pilosa</i> "sasetilla, amor seco" (Incluye elaboración del extracto hidroalcohólico)
Producto para evaluar	: Hojas de <i>Bidens pilosa</i> (sasetilla, amor seco)
Cantidad de muestra	: Dos kilogramos
Identificación	: -----
Presentación	: Bolsa de polietileno
Lugar y fecha de recepción	: Laboratorio de Análisis, 22 de enero de 2023
Características de entrega	: Muestra proporcionada por el solicitante en bolsa de polietileno
Condiciones de recepción	: En aparente buen estado a temperatura ambiente
Muestra de diluencia	: No proporcionada por el solicitante
Fecha de inicio de ensayo	: 06 de febrero del 2023
Fecha de término de ensayo	: 05 de marzo del 2023

**ENSAYOS**

DETERMINACIONES	EXTRACTO	RESULTADOS
Tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico (EH)	E.H. De las hojas	* Glucósidos (+++), compuestos fenólicos (+++), flavonoides (+++), taninos (+), esteroides y triterpenoides (++) , alcaloides (++)
Prueba de solubilidad del extracto	E.H. de las hojas	** Agua (+), Etanol 70% (++) , Etanol 96% (++), Metanol (++), Alcohol etílico absoluto (+), Diclorometano (++) , n-Butanol (+++)

\*Los resultados son cualitativos y determinan una probabilidad de la presencia de metabolitos en la muestra.

\* (+++) = Abundante; (++) = Moderado; (+) = Escaso; (-) = Ausencia

\*\* (+++) = Muy soluble; (++) = Moderadamente soluble; (+) = Poco soluble; (-) = Insoluble

  
**Marilyn Mañuca Flores**  
 QUÍMICO-FARMACÉUTICO  
 C.B.P.P. 2075

Los resultados de los ensayos corresponden solo a la(s) muestra(s) del lote ensayado(y) y no se puede extrapolar los resultados del informe a ninguna otra unidad o lote del producto evaluado que no haya sido analizado. Página 1 de 6

**PROHIBIDA LA MODIFICACIÓN TOTAL O PARCIAL DE ESTE INFORME**

Instituto de Investigación Traslacional y Biotransversal Ayru S.A. P. Raíces Del Castillo 16, Huancayo, Ayacucho. E-mail: [lab@ayruinvestigacion.com](mailto:lab@ayruinvestigacion.com)

**RESULTADOS DETALLADOS**
**I. RESULTADOS DEL TAMIZAJE FITOQUÍMICO DEL EXTRACTO  
HIDROALCOHÓLICO DE LAS HOJAS DE SAETILLA**

METABOLITOS	REACTIVO	IDENTIFICACIÓN	RESULTADO
<b>Metabolitos primarios</b>			
Glucósidos	Molish	Formación de anillo violáceo	++
	Fehling A y Fehling B	Precipitado rojo ladrillo	+++
Aminoácidos	Ninhidrina	Coloración color violáceo	-
<b>Metabolitos secundarios</b>			
Esteroides y Triterpenoides	Lieberman Burchard	Color verde, color azul	+++
Compuestos fenólicos	Tricloruro férrico	Color verde, color azul	+++
Flavonoides	Shinoda	Coloración a rojo	+++
Taninos	Gelatina	Precipitado blanco	-
Cumarinas	Hidróxido de sodio 10 %	Coloración amarillo intenso	+
Quinonas	Bortranger	Coloración a rojo	-
Alcaloides	Dragendorf	Precipitado rojo naranja	++
	Mayer	Precipitado blanco	+
Sesquiterpenlactonas	Beiljet	Coloración rojo naranja	-
Saponinas	Agua destilada	Formación de espuma	-

(+++) = Abundante; (++) = Moderado; (+) = Escaso; (-) = Ausencia

- Actividad Antifúngica



INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN TRASLACIONAL Y BIOTRANSVERSAL AYRU

**INFORME DE ANÁLISIS AYRU N° 124-2023**

Emitido en Huaraz, el 05 de marzo del 2023

Orden de Trabajo	: 107-2023
Número de servicio	: 114-2023-AYRU
Nombre del Solicitante	: Bach. Marilyn Mañulco Flores
Dirección	: Distrito de Vinchos, provincia de Huamanga, Ayacucho
Servicio solicitado	: Actividad antifúngica in vitro del extracto hidroalcohólico de las hojas de Bidens pilosa "suetilla, amor seco" sobre <i>Candida albicans</i> (incluye elaboración del extracto hidroalcohólico)
Producto para evaluar	: Hojas de Bidens pilosa (suetilla, amor seco)
Cantidad de muestra	: Dos kilogramos
Identificación	: -----
Presentación	: Bolsa de polietileno
Lugar y fecha de recepción	: Laboratorio de Análisis, 22 de enero de 2023
Características de entrega	: Muestra proporcionada por el solicitante en bolsa de polietileno
Condiciones de recepción	: En aparente buen estado a temperatura ambiente
Muestra de diluencia	: No proporcionada por el solicitante
Fecha de inicio de ensayo	: 06 de febrero del 2023
Fecha de término de ensayo	: 05 de marzo del 2023

**ENSAYOS**

DETERMINACIONES	CONCENTRACIÓN DEL EXTRACTO	RESULTADOS *
Evaluación de la actividad antifúngica frente a <i>Candida albicans</i> ATCC 90028	25%	11.96 ± 0.84
	50%	18.22 ± 0.76
	75%	23.99 ± 0.57
	100%	28.09 ± 0.83

\* Halos de inhibición (mm), promedio ± DE

El excavado presenta 8 mm de diámetro, por lo cual las lecturas de los halos consideran el diámetro del excavado

**Marilyn Pier Capcha Blocha**  
 QUÍMICO FARMACÉUTICO  
 C.B.P. 26176

Los resultados de los ensayos corresponden solo a la(s) muestra(s) del lote ensayado(s) y no se puede extrapolarse los resultados del informe a ninguna otra unidad o lote del producto evaluado que no haya sido analizada.

Página 1 de 4

**PROHIBIDA LA MODIFICACIÓN TOTAL O PARCIAL DE ESTE INFORME**

Instituto de Investigación Traslacional y Biotransversal Ayru SAC. D. Rafael Del Castillo 176, Huaraz, Ayacucho. E-mail: [laboratorio@ayru.com](mailto:laboratorio@ayru.com)

- Medición de los halos de inhibición



INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN TRASLACIONAL Y BIOTRANSVERSAL AYRU

### **RESULTADOS DETALLADOS**

#### **I. RESULTADOS DE LA MEDIDAS DE HALOS DE INHIBICIÓN**

PLACA PETRI	HALOS DE INHIBICIÓN (mm)					
	A	B	C	D	E	F
1	8.02	12.37	17.22	23.46	28.53	31.56
2	8.03	12.56	17.34	22.75	27.41	32.11
3	8.02	12.44	19.26	24.31	29.22	32.14
4	8.03	12.37	18.15	24.17	27.17	31.27
5	8.01	10.17	18.37	23.96	26.94	33.68
6	8.02	10.65	18.25	23.68	27.38	33.72
7	8.01	11.39	17.48	23.72	28.31	31.82
8	8.02	11.72	17.30	23.93	28.62	33.69
9	8.03	12.81	18.29	24.71	29.14	31.21
10	8.01	12.74	19.11	24.67	27.87	31.46
11	8.02	11.96	19.34	24.63	27.36	31.72
12	8.01	12.37	18.47	23.86	29.07	33.28
<b>PROMEDIO</b>	<b>8.019</b>	<b>11.96</b>	<b>18.22</b>	<b>23.99</b>	<b>28.09</b>	<b>32.31</b>
<b>DS</b>	<b>0.01</b>	<b>0.84</b>	<b>0.76</b>	<b>0.57</b>	<b>0.83</b>	<b>1.00</b>

**Leyenda:** A = Control Etanol 70%; B = Extracto 25%; C = Extracto 50%; D = Extracto 75%; E = Extracto 100%; F = Control Fluconazol 60 mg/mL

  
 Marleny Fler Capcha Siccha  
 QUÍMICO FARMACÉUTICO  
 C.Q.F.P. 28776

Los resultados de los ensayos corresponden solo a la(s) muestra(s) del lote ensayado(s) y no se puede extrapolar los resultados del informe a ninguna otra unidad o lote del producto evaluado que no haya sido analizada. Página 4 de 4

**PROHIBIDA LA MODIFICACIÓN TOTAL O PARCIAL DE ESTE INFORME**

Instituto de Investigación Traslacional y Biotransversal Ayru SAC. Jr. Rafael Del Castillo S/N, Huaraz, Ancash. E-mail: [laboratorio@iayru.com](mailto:laboratorio@iayru.com)

## ANEXO B: Matriz de consistencia

Formulación del problema	Objetivos	Hipótesis
<b>Problema General</b>	<b>Objetivo General</b>	<b>Hipótesis General</b>
¿Qué actividad antifúngica in vitro presenta el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Bidens pilosa</i> "Saetilla" sobre <i>Candida albicans</i> ?	Demostrar la actividad antifúngica in vitro del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Bidens pilosa</i> "Saetilla" sobre <i>Candida albicans</i> .	El extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Bidens pilosa</i> "Saetilla" presentan actividad antifúngica in vitro sobre <i>Candida albicans</i> .
<b>Problemas Específicos</b>	<b>Objetivos Específicos</b>	<b>Hipótesis Específicas</b>
¿Qué solubilidad presentará el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Bidens pilosa</i> "Saetilla" sobre diferentes solventes?	Evaluar que solubilidad presentará el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Bidens pilosa</i> "Saetilla" sobre diferentes solventes.	El extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Bidens pilosa</i> "Saetilla" presenta buena solubilidad sobre diferentes solventes.
¿Qué metabolitos secundarios presenta el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Bidens pilosa</i> "Saetilla"?	Identificar los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Bidens pilosa</i> "Saetilla".	El extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Bidens pilosa</i> "Saetilla" presenta metabolitos secundarios.
¿Qué actividad antifúngica in vitro presenta el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Bidens pilosa</i> "Saetilla" sobre <i>Candida albicans</i> a diferentes concentraciones?	Conocer que actividad antifúngica in vitro presenta el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Bidens pilosa</i> "Saetilla" sobre <i>Candida albicans</i> a diferentes concentraciones.	El extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Bidens pilosa</i> "Saetilla" presenta actividad antifúngica in vitro sobre <i>Candida albicans</i> a diferentes concentraciones.
¿Cuál es el grado de efectividad in vitro del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Bidens pilosa</i> "Saetilla" sobre <i>Candida albicans</i> en comparación con fluconazol?	Conocer el grado de efectividad in vitro del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Bidens pilosa</i> "Saetilla" sobre <i>Candida albicans</i> en comparación con fluconazol.	El extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Bidens pilosa</i> "Saetilla" presenta mejor actividad antifúngica in vitro sobre <i>Candida albicans</i> en comparación con fluconazol.
<b>PROCEDIMIENTO PARA COLECTA DE DATOS USANDO FICHA DE RECOPIACION DE DATOS</b>		
Para recolectar los datos de la parte experimental, será necesario utilizar la ficha de recopilación de datos donde se colocarán los valores obtenidos de la medición de los halos producto de la susceptibilidad del producto experimental sobre la cepa <i>Candida albicans</i> .		

### ANEXO C: Operacionalización de las variables

VARIABLES	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	DIMENSIONES	INDICADORES	ESCALA DE MEDICIÓN	N° DE ÍTEMS	VALOR
Extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Bidens pilosa</i> "Saetilla"	Producto extractivo de consistencia seca que se obtiene de la maceración de las hojas de las plantas que presenta sustancias farmacológicamente activas.	Producto extractivo obtenido de las hojas de <i>Bidens pilosa</i> "Saetilla".	Concentración	Porcentaje	Razón	4 extractos a evaluar 1 control a comparar	100% 75% 50% 25% Control
Actividad antifúngica	Procedimiento para evaluar el crecimiento de hongos en medio selectivo.	Procedimiento para evaluar la actividad antifúngica de Extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Bidens pilosa</i> "Saetilla" sobre <i>Candida albicans</i> .	Halo de inhibición	Diámetro	Razón	3 categorías	Susceptible <b>≥20</b> Intermedio 15-19 Resistente ≤15



## ANEXO D: Documentos obtenidos para el desarrollo de la investigación

- Carta Emitida de la Universidad María Auxiliadora al Laboratorio de Investigación Traslacional y Biotransversal AYRU



# UNIVERSIDAD MARÍA AUXILIADORA

**"Año del Fortalecimiento de la Soberanía Nacional"**

San Juan de Lurigancho 07 de diciembre del 2022

**CARTA N°218-2022/EPFYB-UMA**

**Dr.  
Miguel Angel Inocente Camones  
Director Ejecutivo  
INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN TRASLACIONAL Y BIOTRANSVERSAL AYRU  
SAC  
Presente.**

De mi especial consideración:

Es grato dirigirme a ustedes para saludarlos en nombre propio y de la Universidad María Auxiliadora, a quien represento en mi calidad de Director de la Escuela de Farmacia y Bioquímica.

Sirva la presente para pedir su autorización a que los bachilleres **Marilyn Mañuico Flores** identificada con DNI N°70096642 y **Solvi Maritza Achulla Puma** con DNI N°70990066, puedan recopilar los siguientes datos: Certificado Botánico, Marcha Fitoquímica, Prueba de Solubilidad, Prueba de Sensibilidad, Actividad Antifungico, para su trabajo de investigación, **"ACTIVIDAD ANTIFUNGICA IN VITRO DEL EXTRACTO HIDROALCOHOLICO DE LAS HOJAS DE *BIDENS PILOSA* "SAETILLA" SOBRE *CANDIDA ALBICANS*".**

Sin otro particular, hago propicio la ocasión para expresarle los sentimientos de mi más alta consideración y estima.

Atentamente,



---

Dr. Jhonné Samaniego Joaquín  
Director de la Escuela Profesional de  
Farmacia y Bioquímica



Av. Casto Bello 431, San Juan de Lurigancho  
Tel: 389 1212  
www.umaperu.edu.pe

- Conformidad de realización de análisis por parte del Laboratorio AYRU



**INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN  
TRASLACIONAL Y BIOTRANSVERSAL AYRU SAC**

**INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN TRASLACIONAL Y BIOTRANSVERSAL AYRU**  
 RUC: 20605281410  
 Avenida Bolivia 1109, oficina 1616, Breña, Lima, Perú  
 Contacto: 998602255/ 998195808/ 949747904  
 Laboratorio@ayru.com  
[www.iayru.com](http://www.iayru.com)

**ORDEN DE TRABAJO**  
 Orden de trabajo: 107-2022  
 Número de servicio: 114-2023-AYRU  
 Fecha: 06/03/23  
 Bach. Marilyn Mañuico Flores  
 Bach. Solvi Maritza Puma Achulla

Servicio solicitado:	Prueba de sensibilidad "in vitro" de la cepa de Candida albicans ATCC 90028 frente a diferentes concentraciones de fluconazol
Producto evaluado:	Hojas de Bidens pilosa (saetilla, amor seco)
Lugar y fecha de recepción	Laboratorio de Análisis, 22 de enero de 2023
Fecha de inicio del ensayo:	06 de febrero del 2023
Fecha de término de ensayo:	05 de marzo del 2023



MG. MIGUEL ANGEL INOCENTE CAMONES  
 GERENTE GENERAL  
 Instituto de Investigación Traslacional y Biotransversal  
 AYRU SAC

contacto@iayru.com  
 laboratorio@iayru.com  
 www.iayru.com

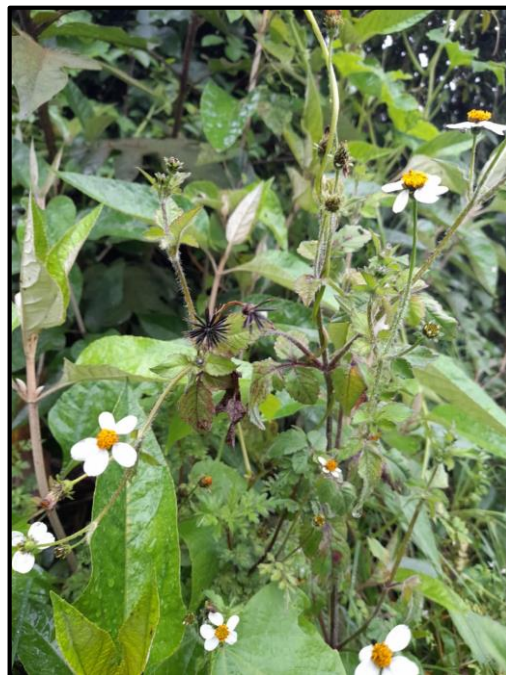
Jr. Rafael Del Castillo Nro S/N Mza.  
 06 Lote 5C, Urb. Pedregal Medio,  
 Huaraz, Ancash, Perú



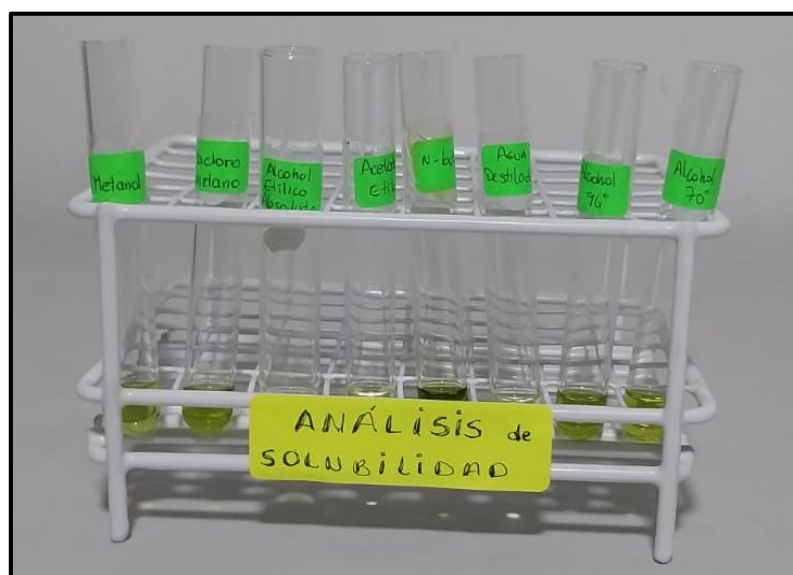
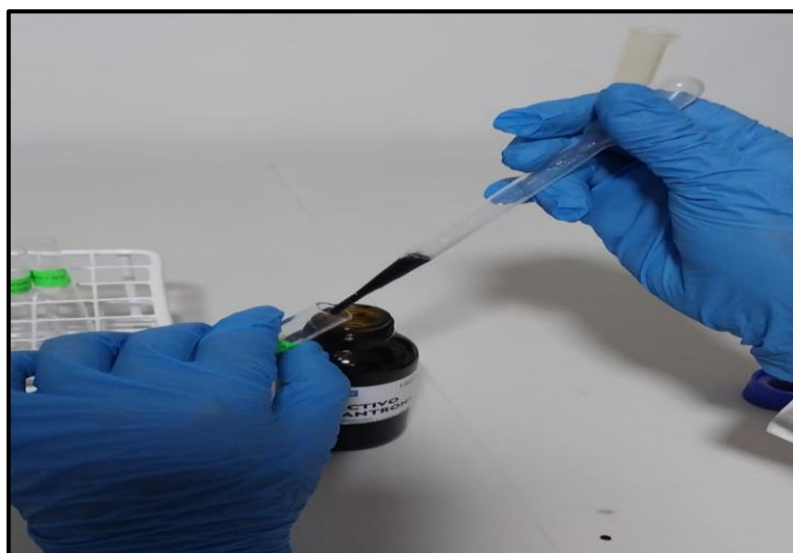
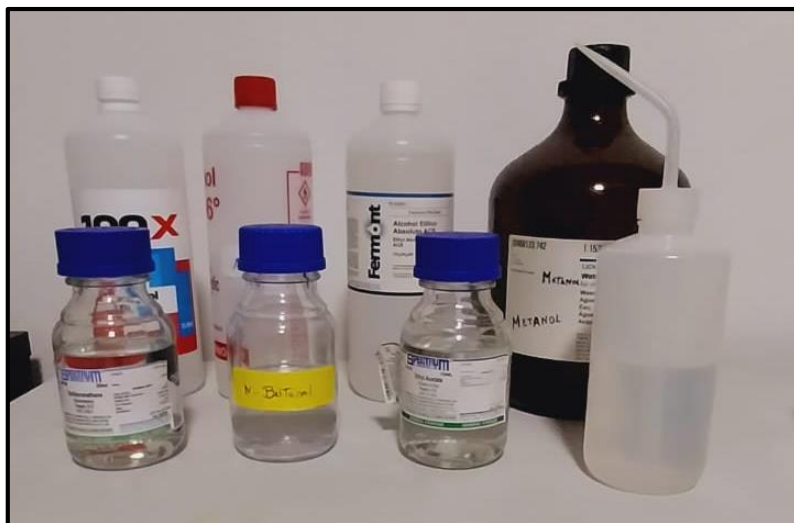


## ANEXO E: Evidencias fotográficas del trabajo de campo

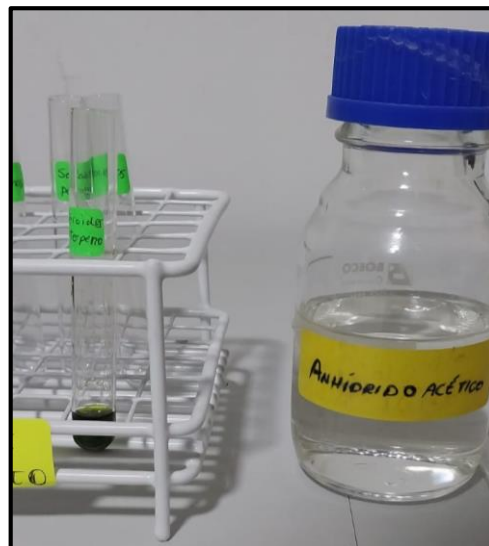
- Zona de recolección de la muestra Distrito de Vinchos - Provincia:  
Huamanga – Departamento de Ayacucho



## Evidencias fotográficas de la Prueba de Solubilidad



## Evidencias fotográficas de la Marcha Fitoquímica





## Evidencias fotográficas de la actividad antifúngica

