



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

**ACTIVIDAD SINÉRGICA ANTIMICÓTICA DEL EXTRACTO
METANÓLICO *Piper aduncum* (MATICO) Y ACEITE DE
Cocos nucifera (COCO) frente a *Candida albicans* in vitro**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE QUÍMICO
FARMACÉUTICO**

AUTORES:

BACH. CARRASCO CASTRO, CÉSAR ALEJANDRO

BACH. MIRANDA PATIÑO, LEIDY DIANA

ASESOR:

Mg. Q.F. FLÓREZ LÓPEZ, OSCAR

LIMA – PERÚ

2021

Dedicatoria

Dedico este trabajo a mi hijo Matthews Marcelo Huangal Miranda, a mis padres Mercedes Patiño Gonzales y Jorge Elmer Miranda León y hermanos Emely y Jorge.

Leidy Diana Miranda Patiño

A Dios y mis padres Alejandro y Jesús que son mi ser y mi motivo

A Mi familia, mi esposa Virginia e hijos Adrián y Grecia quienes son mi fortaleza en todo.

César Alejandro Carrasco Castro

Agradecimiento

A la universidad María Auxiliadora por darnos la oportunidad de continuar con nuestra carrera y culminarla

A nuestro asesor de tesis Óscar Flores López por guiarnos en nuestra tesis.

A nuestro maestro Martín Silva Romero por sus enseñanzas brindadas y apoyo en la ejecución de nuestro trabajo de investigación.

Índice General

Resumen.....	viii
ABSTRACT	ix
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MATERIALES Y METODOS	7
2.1 Enfoque y diseño de investigación	7
2.2 Población, muestra y muestreo	7
2.3 Variables de investigación	7
2.4 Técnica de instrumento de recolección de datos	7
2.5 Proceso de recolección de datos	8
III. RESULTADOS.....	11
IV. DISCUSIÓN	16
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	21
ANEXOS	23

Índice de Tablas

Tabla 1. Estadístico descriptivo de los datos analizados	11
Tabla 2. Prueba de normalidad	13
Tabla 3. Prueba de homogeneidad de varianzas	13
Tabla 4. Análisis de la varianza (ANOVA)	14
Tabla 5. Análisis por Subgrupos homogéneos.....	15

Índice de Figuras

Figura 1. Gráfico de medias de los grupos de datos paramétricos	12
Figura 2. Recolección, lavado y secado de la muestra vegetal.....	30
Figura 3. Triturado de la muestra vegetal.....	30
Figura 4. Pulverizado y tamizado de la muestra vegetal	31
Figura 5. Preparación del macerado	31
Figura 6. Filtración del macerado.....	31
Figura 7. Evaporación del filtrado.....	32
Figura 8. Pelado, secado y rayado del coco	32
Figura 9. Extracción del aceite de coco por prensado en frío.....	33
Figura 10. Extracto y aceite a diferentes concentraciones	33
Figura 11. Preparación del material de trabajo.....	33
Figura 12. Activación de la cepa <i>Candida albicans</i> ATCC 10231	34
Figura 13. Preparación del inóculo, sembrado en placa e incubación	34
Figura 14. Preparación de los pozos.....	34
Figura 15. Aplicación de los extractos y aceite.....	35
Figura 16. Medición de los halos de inhibición	35

Índice de Anexos

Anexo A. Operacionalización de las variables.....	24
Anexo B. Instrumento de recolección de datos	25
Anexo C. Clasificación taxonómica	26
Anexo D. Certificado de análisis de la cepa	28
Anexo E. Evidencias fotográficas del trabajo de campo.....	30
Anexo F. Resultados de la Sensibilidad bacteriana	36
Anexo G. Escala de Duraffourd.....	37

Resumen

Objetivo: Demostrar la actividad sinérgica del extracto etanólico de *Piper aduncum* (mático) y aceite de *Cocos nucifera* (coco) frente a *Candida albicans*

Métodos: Presentó un enfoque cuantitativo de diseño experimental, la población de estudio fue *Piper aduncum* (Matico) y *Cocos nucifera* (Coco), el extracto metanólico de matico y aceite de coco se obtuvo por maceración y el prensado en frío respectivamente, el efecto antimicótico se demostró por el método de Difusión en Pozo, se preparó el extracto y aceite a las concentraciones del 50%, 75% y 100% y la combinación en igual concentración.

Resultados: El extracto metanólico de *Piper aduncum* (mático) frente a *Candida albicans* obtuvo halos de inhibición promedio de 12.4mm \pm 0.06, 11.9mm \pm 0.06 y 10.3mm \pm 0.06 para las concentraciones del 100%, 75% y 50% respectivamente; el aceite de *Cocos nucifera* (coco) obtuvo halos de inhibición de 9.5mm \pm 0.06, 6.8mm \pm 0.05, y 6.0mm \pm 0.01 para las mismas concentraciones respectivamente y la combinación del extracto metanólico de matico y aceite de coco a las concentraciones del 50%, 75% y 100% obtuvo halos de inhibición de 9.9mm \pm 0.01, 11.2mm \pm 0.01 y 13.7mm \pm 0.01 respectivamente.

Conclusiones: La *Candida albicans* es sensible al extracto metanólico de matico a las concentraciones del 50%, 75% y 100%, presenta sensibilidad nula a todas las concentraciones del aceite de coco y solo se presenta efecto sinérgico a la concentración del 100%.

Palabras claves: *Candida albicans*, extracto metanólico, aceite de coco, matico, *Piper aduncum*, *Cocos nucifera*

ABSTRACT

Objective: To demonstrate the synergistic activity of the ethanolic extract of *Piper aduncum* (matico) and *Cocos nucifera* (coconut) oil against *Candida albicans*

Methods: It presented a quantitative approach of experimental design, the study population was *Piper aduncum* (matico) and *Cocos nucifera* (Coco), the methanolic extract of matico and coconut oil was obtained by maceration and cold pressing respectively, the antifungal effect It was demonstrated by the Well Diffusion method, the extract and oil were prepared at concentrations of 50%, 75% and 100% and the combination in equal concentration.

Results: The methanolic extract of *Piper aduncum* (matic) against *Candida albicans* obtained average inhibition halos of 12.4mm + 0.06, 11.9mm + 0.06 and 10.3mm + 0.06 for the concentrations of 100%, 75% and 50% respectively; *Cocos nucifera* (coconut) oil obtained inhibition halos of 9.5mm + 0.06, 6.8mm + 0.05, and 6.0mm + 0.01 for the same concentrations respectively and the combination of methanolic extract of matico and coconut oil at concentrations of 50 %, 75% and 100% obtained inhibition halos of 9.9mm + 0.01, 11.2mm + 0.01 and 13.7mm + 0.01 respectively.

Conclusions: *Candida albicans* is sensitive to methanolic extract of matico at concentrations of 50%, 75% and 100%, it has null sensitivity to all concentrations of coconut oil and a synergistic effect is only present at a concentration of 100%.

Keywords: *Candida albicans*, methanolic extract, coconut oil, matico, *Piper aduncum*, *Cocos nucifera*

I. INTRODUCCIÓN

La candidiasis o candidosis es un tipo de micosis causada con mayor frecuencia por un hongo (levadura) *Candida albicans*, es considerada una infección cosmopolita, prevalente y oportunista en los seres humanos. Su incidencia ha aumentado notablemente en las últimas dos décadas afectando a personas de cualquier edad sexo o grupo étnico¹.

La *Candida albicans* ha demostrado sensibilidad frente a fármacos imidazoles, no obstante, aún no se consigue la erradicación completa de este patógeno ya que los pacientes vuelven a recaer uno o dos meses después de finalizar el tratamiento con dichos fármacos².

La medicina tradicional herbolaria representa una alternativa terapéutica a los medicamentos de síntesis para el tratamiento de muchas enfermedades. *Piper aduncum* (matico) es una planta nativa del Perú que constituye una de esas opciones, debido a sus usos tradicionales y su composición ya que se le atribuyen propiedades antifúngicas y antibacterianas contra *Candida albicans*, *Pseudomonas aeruginosa*, *E. coli*³.

La OMS revela datos que un 40 a 50% de pacientes con VIH – positivos sufren infecciones bucales causadas por hongos, usualmente al inicio de la enfermedad. Considera también, que la candidiasis sigue siendo frecuente en países en desarrollo generalmente en zonas rurales, demandando gastos económicos y problemas sanitarios ya que son causa habitual de incapacidad causando síntomas de prurito y de dolor^{4,5}.

La revista Europea de Microbiología Clínica y de Enfermedades Infecciosas, señala que existen 832 millones de personas con infecciones micóticas serias en 14 países de Asia, América, Europa y África del Norte, estas pueden causar enfermedad crónica y en casos severos, hasta la muerte⁶.

En Europa la candidiasis representa la primera infección vaginal más frecuente, mientras que en los Estados Unidos es la segunda infección vaginal más frecuente².

Los EEUU ha estimado el gasto del evento por *Candida albicans* siendo el costo muy significativo (\$1.0 billón al año). En el periodo de 1979 a 2000 los casos de origen fúngico aumento en un 207% siendo el principal agente etiológico la *Candida*^{7,8}.

En la Universidad Autónoma de México estudios han demostrado que la presencia de aparatos bucales de ortodoncia trae como consecuencia alteraciones de la mucosa oral, por lo que puede aumentar la colonización por *Candida albicans* trayendo como consecuencia candidiasis oral. Sumado a estos estudios, las especies de *Candida* en la cavidad bucal de adultos jóvenes presenta un porcentaje de colonización de hasta 60%⁹.

En la ciudad de Puebla – México el 28% de mujeres presenta infección por *Candida albicans*. Siendo la vulvovaginitis aguda una de las causas principales en los consultorios ginecológicos especialmente por mujeres fértiles. La Unión Americana estima que cerca del 75% de las mujeres han sufrido al menos una vez en su vida de candidiasis entre el tiempo de la menarquia y la menopausia¹⁰.

En Brasil se realizó un estudio de vigilancia en 16 hospitales encontrando cifras para candidemia de 2.49 casos de cada 1000 admisiones, con una mortalidad del 72%⁸.

Las estadísticas señalan que en Cuba a nivel nacional el 75% de las mujeres sufren al menos un evento de candidiasis vaginal, y un 40 a 50 % vuelven a recaer, siendo en muchos casos un 5 a 7% de carácter crónico con poca respuesta al tratamiento terapéutico².

En el Perú el Ministerio de Salud informa que dentro de las infecciones oportunistas el agente etiológico más común es la *Candida albicans*; causando candidemia en un 40 a 60%. Además, es la más frecuente en recién nacidos con un peso menor al de 1500g causando una candidiasis invasiva. La proliferación por *Candida* oral se presenta en un 40% a 70% en adultos y niños sanos, estas cifras son más altas en niños con caries y en adultos con dentadura postiza¹¹.

La Universidad Cayetano Heredia en Lima – Perú, estima que la candidiasis vaginal, oral y esofágica y candidemia es una de las micosis más frecuentes en nuestro país; con una estimación general que equivale a 581 174 casos por año⁶.

En Chiclayo se realizaron estudios concluyendo que existe relación entre el grado de estomatitis en la cavidad bucal y las micosis por *Candida albicans*¹².

A nivel regional no existen datos actuales que revelen el índice de infección por *Candida albicans*, pero se sabe que es una de las infecciones de mayor prevalencia en nuestra localidad y también una de las infecciones oportunistas en pacientes inmunocomprometidos de todas las edades.

El género Piper cuenta con 2000 especies, ejemplo *Piper aduncum*, y sus especies sinonimias más comunes son *Artanthe adunca* (L.), *Piper angustifolium*, *Piper elongatum*. La principal propiedad medicinal que se le otorga es la de cicatrizante, ya sea en heridas externas o internas (ulceras digestivas)¹³.

Piper aduncum se ha usado de manera tradicional en América del Sur, es valorado especialmente por sus cualidades antisépticas y utilizado para tratar heridas, entre otras bondades. La investigación moderna ha confirmado la presencia de una variedad de compuestos médicamente activos en la planta, incluidos flavonoides, sequiterpenos, monoterpenos, heterociclos, fenilpropanoides, alcaloides y bencenoides¹⁴.

Los principios activos más importantes y responsables de sus propiedades medicinales son los taninos. También presenta aceites etéreos, polifenoles, esterres fenólicos, amidas picantes, lignanos, mono y sesqui terpenos, pirones, alcaloides, fenil propanoides, esencias, glucósidos (flavonoides).

Cocos nucifera (coco) proviene de la palmera de coco que crece en los trópicos y subtropicales, y puede sobrevivir durante 100 años en la naturaleza, contiene levulosa, inulina, proteínas, sales minerales, celulosa, vitamina C, rivo flavina y niacina¹⁵.

En un estudio reciente encontró éter metílico de lupeol (1), skimmiwallina (2) [3 β -metoxi-25-etil-9,19-ciclolano-24(241)-eno] e isoskimmiwallina (3) [3 β -metoxi-24-etil-9,19-ciclolano-25(251)-eno] en *Cocos nucifera* L.¹⁶.

C. albicans es un microorganismo patógeno y oportunista, este hongo produce candidiasis que es una infección generalmente superficial causada por el patógeno *Candida albicans* afecta a la piel, mucosas y uñas. Normalmente se manifiesta con enrojecimiento en la zona afectada, picazón y malestar, aunque sus manifestaciones

clínicas son muy versátiles con evolución aguda, episódica o clínica. En pacientes inmunosuprimidos (SIDA, trasplantados) la infección puede llegar a ser sistémica causando candidemia que pone en riesgo la vida del paciente¹⁷.

Tipula M. (2016) realizó un estudio sobre un extracto hidroalcohólico a base de *Piper angustifolium* "MATICO" y su efecto antifúngico sobre cepas de *Candida albicans* comparado con la Nistatina in vitro siguiendo la técnica de difusión en disco, obteniendo el extracto de las hojas de *Piper angustifolium* al 10% un halo de inhibición a las 24 horas de 16.8 + 1.3 mm y 8.6 + 1.4 mm a las 48 horas. La Nistatina a las 24 horas obtuvo un halo inhibitorio de 22.6 + 1.1 mm¹⁸.

Escalante, M. (2015) determinó la sensibilidad de *Listeria monocytogenes* y *Listeria ivanovii* frente al aceite esencial de *Cocos nucifera*, el aceite se extrajo con el solvente orgánico Hexano, la prueba de sensibilidad se realizó mediante la técnica de difusión en Agar en placas Petri, llegando a la conclusión que existe incremento de la sensibilidad de *Listeria monocytogenes* y *Listeria ivanovii* frente al aceite de *Cocos nucifera*, conforme aumenta la concentración de este¹⁹.

Sonco R., (2018) en su estudio determinó la eficacia antifúngica del aceite esencial de *Cocos nucifera* (coco) sobre cepas de *Candida albicans* aisladas, los resultados observados a las 24, 48 y 72 horas no mostraron ningún halo de inhibición formado en los discos con aceite de *Cocos nucifera* (coco) a las concentraciones preparadas²⁰.

Inofuentes Z. et al. (2019) realizaron un estudio con el objetivo de determinar el efecto inhibitorio de *Piper aungustifolium* (matico) sobre la cepa de *Enterococcus faecalis*, en la metodología se obtuvo un extracto etanólico de *Piper aungustifolium* y una pasta de Hidróxido de Calcio, la técnica empleada fue difusión en disco y difusión en pocitos, luego de analizar los resultados encontrados el estudio concluye que el extracto etanólico de *Piper aungustifolium* (matico) presenta efecto sobre *E. faecalis*²¹.

Zavaleta L. (2018) determinó el efecto de las concentraciones del extracto etanólico de hojas de *Piper angustifolium* (MATICO) sobre el crecimiento de *Proteus mirabilis* en condiciones de laboratorio, la extracción se realizó mediante la técnica Soxhlet logrando determinar que el extracto etanólico de *Piper angustifolium* (matico) presenta efecto antimicrobiano sobre *Proteus mirabilis* y que se potencia al aumentar la concentración del extracto²².

Kumar P. (2018), evaluó la eficacia como agentes antifúngicos contra *Candida albicans* de *Azadirachta indica* (aceite de neem), aceite de *Melaleuca alternifolia* (aceite de árbol de té) y aceite de *Coco nucifera* (aceite de coco) e incorporarlos como agentes fitoterapéuticos, en los resultados a las 48 horas se encontró inhibición contra *Candida albicans* al 20% v/v, 25% v/v y 15% v/v de aceite de *Cocos nucifera*, aceite de *Melaleuca alternifolia* y de *Azadirachta indica* respectivamente²³.

Actualmente las micosis han aumentado considerablemente, esto debido a que cada vez hay más pacientes inmunocomprometidos con: quimioterapia, cirugía de trasplante, uso de medicamentos de amplio espectro y SIDA, estas condiciones hacen más susceptibles para contraer infecciones oportunistas que los puede llevar hasta la morbimortalidad.

Así mismo, existen muchas investigaciones sobre medicina alternativa mediante el uso de plantas medicinales, lo que implica la importancia de estas en el tratamiento de las enfermedades como lo demuestran investigaciones realizadas, por lo tanto el estudio aportará información actualizada sobre las propiedades de estas plantas con el fin de demostrar la efectividad para combatir microorganismos tomando en consideración para dicho fin *Candida albicans*.

Por lo tanto, el presente estudio se justifica en la finalidad que persigue de sus objetivos al obtener mediante la combinación de dos especies vegetales una mayor efectividad antimicótica sobre cepas de *Candida albicans*.

De este modo, los logros que se obtuvieron en el estudio aportarán un nuevo conocimiento a la ciencia, mostraran nuevos procedimientos con efectividad demostrada, así como, técnicas metodológicas que se emplearon en la realización del trabajo de investigación.

Así mismo, el estudio servirá en beneficio de la sociedad y salud pública al plantearse como alternativa de solución a la problemática de la resistencia bacteriana y al combatir una enfermedad muy común en la población como la candidiasis, así mismo, servirá de base para la realización de nuevas investigaciones.

En este presente estudio se planteó como objetivo general demostrar la actividad sinérgica del extracto metanólico de *Piper aduncum* (mático) y aceite de *Cocos nucifera* (coco) frente a *Candida albicans*,

La hipótesis general del presente estudio plantea que el extracto metanólico de *Piper aduncum* (mático) y aceite *Cocos nucifera* (coco) tienen actividad sinérgica in vitro sobre cepas de *Candida albicans*.

II. MATERIALES Y METODOS

2.1 Enfoque y diseño de investigación

Enfoque: Cuantitativo

Diseño: Experimental de corte transversal, prospectivo^{24,25}.

La investigación es de diseño experimental debido a que el investigador manipula o altera las condiciones deliberadamente para exponerlas a un tratamiento.

2.2 Población, muestra y muestreo

Población: Conformada por *Piper aduncum* (Matico) y *Cocos nucifera* (Coco), los que fueron recolectados del distrito de Cañaris de la provincia de Ferreñafe, departamento de Lambayeque ubicado a 6.037° de latitud Sur y 79.233° de longitud Oeste.

Muestra: Se tomó una muestra de 1 kilogramo de hojas de *Piper aduncum* (Matico) y 400 gramos de pulpa de *Cocos nucifera* (Coco)

Muestreo: La técnica de muestreo empleado fue de tipo no probabilística por conveniencia

2.3 Variables de investigación

Variable independiente: Extracto metanólico de *Piper aduncum* (Matico) y aceite de *Cocos nucifera* (Coco)

Definición conceptual: Metabolitos secundarios obtenidos de una especie vegetal

Definición operacional: Extracto metanólico obtenido por maceración y aceite obtenido por prensado en frío.

Variable dependiente: Efecto antimicótico frente a *Candida albicans*

Definición conceptual: Acción producida por una sustancia la cual tiene la propiedad de matar o disminuir el crecimiento de los hongos ²⁶.

Definición operacional: Diámetro del halo de inhibición

2.4 Técnica de instrumento de recolección de datos

Se empleó el método por difusión en pozo, el cual es empleado para medir la sensibilidad antimicrobiana²⁷

Instrumento de recolección de datos: Se empleó el vernier digital y registraron los datos mediante una ficha de registro.

2.5 Proceso de recolección de datos

2.5.1. Autorización y coordinaciones previas para la recolección de datos

Se solicitó los permisos necesarios para acceder a la obtención directa en el área donde se cultivaban las especies vegetales, luego se realizó la identificación a través de un especialista botánico (ver anexo C), del mismo modo, se adquirió la cepa de *Candida albicans* ATCC 10231™ con su debida certificación (ver anexo D)

2.5.2. Obtención y preparación de la muestra vegetal de *Piper aduncum* (mático)

La muestra vegetal de *Piper aduncum* (mático) fue recolectada en el distrito de Cañaris, provincia de Ferreñafe, departamento de Lambayeque. Las hojas recolectadas se lavaron con agua potable para eliminar todos los materiales no deseados, posteriormente se lavó con agua destilada, luego se secaron al aire y posteriormente en estufa a 40°C, se pulverizaron en un molino mecánico y se almacenaron en un recipiente hermético color ámbar hasta su uso posterior.

2.5.3. Preparación del Extracto Metanólico de *Piper aduncum* (mático)

Se pesaron 1000g del material vegetal pulverizado y llevó a maceración con 1600mL de metanol de 99% durante 5 días, realizando cada 12 horas movimientos de agitación para mezclar uniformemente la muestra con el solvente. Luego de este periodo de tiempo se filtró con papel Whatman Nro. 1. Los filtrados se concentraron en baño maría a 40 °C por 24 horas hasta evaporación completa del solvente. Los extractos brutos se recogieron y colocaron en un desecador hasta observar que ya no existía variación del peso²¹

2.5.4. Extracción del aceite de coco

Se extrajo la pulpa del fruto del coco, se retiró la cascara y rayó para obtener partículas pequeñas, se pesó una cantidad aproximada de 400g, posteriormente el producto del rayado se pasó por una prensadora eléctrica para obtener el aceite a temperatura ambiente.

El aceite obtenido se dejó sedimentar en un vaso beaker de 250mL y separó el sobrenadante.

2.5.5. Reactivación de la cepa de *Cándida albicans*:

Del tubo que contiene a la cepa de *Cándida albicans* se mezcló con una solución estéril y luego se realizó el sembrado en superficie en placa petri con medios selectivos y no selectivos e incubó a 35°C ± 1 por 24h.

2.5.6. Preparación del inóculo de *Cándida albicans*:

Las cepas se prepararon siguiendo los protocolos establecidos por el Instituto de estándares clínicos y de laboratorio (CLSI, 2019), para lo cual se tomó 3 a 4 colonias previamente sembradas en placas Petri con Agar Dextrosa Sabouraud, luego se suspendió en solución salina fisiológica y se realizó diluciones seriadas hasta alcanzar el 0.5 en el nefelómetro de Mac Farland dando un inóculo final de 1.5×10^8 UFC/mL.

2.5.7. Siembra de *Cándida albicans*:

Se sumerge un hisopo estéril, oprimiendo el hisopo por las paredes internas del tubo, con la finalidad de eliminar el exceso de líquido. Se aplica el hisopo en la superficie de las placas con medios de cultivo apropiado, preparadas con anterioridad, estriando uniformemente y rotando la placa 90° por vez.

2.5.8. Evaluación antimicótica del extracto vegetal y aceite de coco.

El efecto antimicótico del extracto metanólico de *Piper aduncum* “mático” y el aceite de *Cocos nucifera* “coco” se realizó utilizando la técnica de “difusión en pozo” sobre *Candida albicans* ATCC 10231.

En las placas se preparó pocitos de 6 mm de diámetro donde se inocularon 30uL del extracto liofilizado del matico y del aceite de coco, a las concentraciones de 50%, 75% y 100% por separado y en otra placa se agregaron 15uL de cada uno a las mismas concentraciones en un solo pozo para verificar el efecto sinérgico. Luego las placas se incubaron a 37°C por 24h. La actividad antibacteriana se evaluó midiendo los diámetros de las

zonas de inhibición en milímetros de los microorganismos de prueba empleando un vernier digital^{20,21}.

2.6. Métodos de análisis estadísticos

Los datos obtenidos del diámetro de los halos de inhibición se analizaron mediante la prueba Kolmogorov-Smirnov para determinar la normalidad de los datos, posteriormente se realizó la prueba de Homogeneidad de varianzas y finalmente se aplicó la prueba de ANOVA y Tukey para grupos homogéneos para determinar la existencia de diferencia significativa con respecto a la tendencia central de la media de los grupos estudiados. Todas las pruebas se realizaron con un nivel de significancia alfa de 0.05 mediante el programa estadístico SPSS versión 26.

2.7 Aspectos éticos

Durante la ejecución del estudio se mantuvo el principio de no maleficencia, no se provocó daño bajo ninguna circunstancia a los participantes ni el medio ambiente, en tal sentido, todo material biocontaminado fue previamente esterilizado antes de su eliminación.

III. RESULTADOS

Tabla 1. Estadístico descriptivo de los datos analizados

Diámetro del halo de inhibición	N	Mean	Std. Deviation	95% Confidence Interval for Mean				
				Std. Error	Lower Bound	Upper Bound	Minimum	Maximum
Extracto Metanólico de Matico (100%)	30	12,4	0,331	0,060	12,2	12,5237	11,90	13,00
Extracto Metanólico de Matico (75%)	30	11,9	0,330	0,060	11,8	12,0868	11,30	12,60
Extracto Metanólico de Matico (50%)	30	10,3	0,339	0,061	10,2	10,5	9,70	11,00
Aceite de Coco (100 %)	30	9,5	0,332	0,060	9,4	9,6	8,90	10,10
Aceite de Coco (75%)	30	6,8	0,274	0,050	6,7	6,9	6,30	7,40
Aceite de Coco (50%)	30	6,0	0,046	0,008	5,9	6,0	6,00	6,20
Control Negativo (DMS)	30	6,0	0,043	0,007	5,9	6,0	6,00	6,20
Actividad Sinérgica Matico (50%) + Coco (50%)	30	9,9	0,323	0,059	9,8	10,0	9,40	10,70
Actividad Sinérgica Matico (75%) + Coco (75%)	30	11,2	0,326	0,059	11,1	11,3	10,40	11,90
Actividad Sinérgica Matico (100%) + Coco (100%)	30	13,7	0,34006	0,06209	13,6	13,8	13,10	14,60

Fuente: Elaborado mediante software SPSS versión 26

La tabla 1 muestra la estadística descriptiva de cada grupo de datos en relación a su número de muestra, media, desviación y error estándar, los límites superior e inferior con un nivel de confianza del 95% y los valores máximos y mínimos encontrados

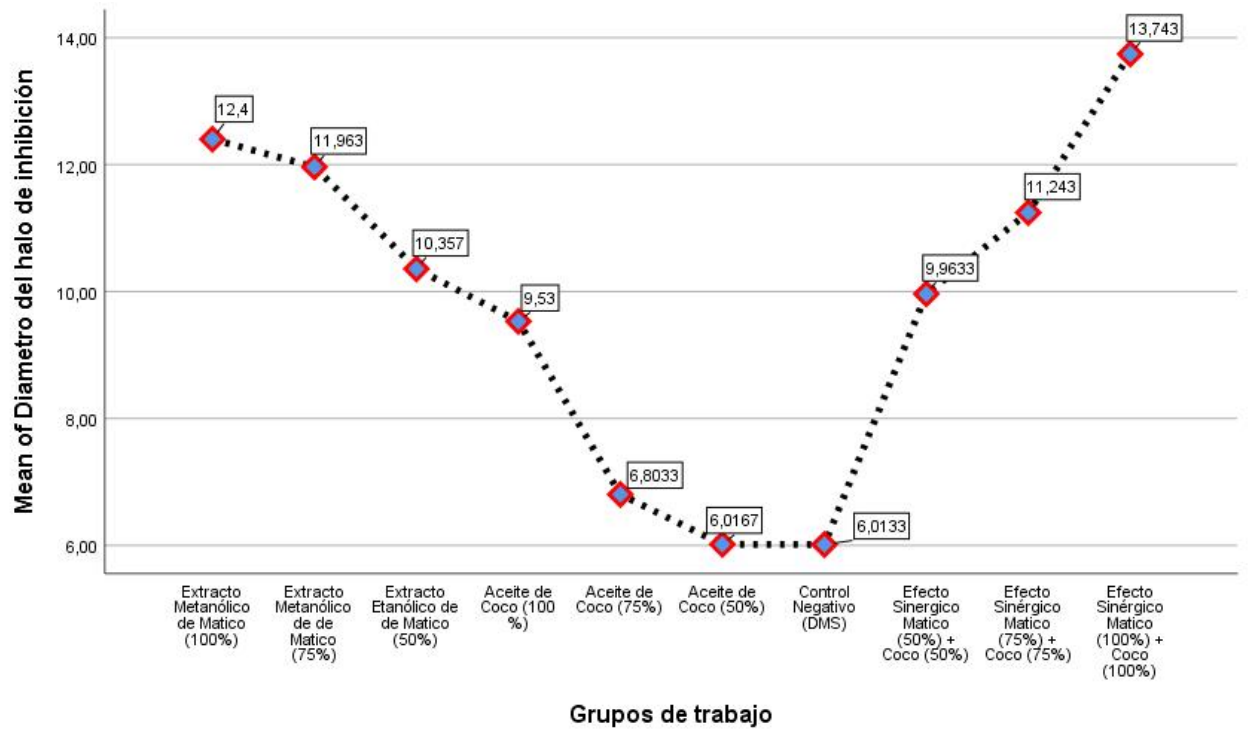


Figura 1. Gráfico de medias de los grupos de datos paramétricos

En la figura 1 se observa el comportamiento a la izquierda del extracto metanólico de matico y el aceite de coco, a la derecha el efecto sinérgico las dos sustancias juntas, nótese valores aparentemente superiores al efecto independiente de cada una.

Tabla 2. Prueba de normalidad

Grupos de trabajo	Kolmogorov-Smirnov ^a		
	Statistic	df	p-valor
Extracto Metanólico de Matico (100%)	0,127	30	0,200*
Extracto Metanólico de Matico (75%)	0,091	30	0,200*
Extracto Metanólico de Matico (50%)	0,122	30	0,200*
Aceite de Coco (100 %)	0,117	30	0,200*
Aceite de Coco (75%)	0,128	30	0,200*
Aceite de Coco (50%)	0,508	30	0,000
Control Negativo (DMS)	0,521	30	0,000
Actividad Sinérgica Matico (50%) + Coco (50%)	0,127	30	0,200*
Actividad Sinérgica Matico (75%) + Coco (75%)	0,102	30	0,200*
Actividad Sinérgica Matico (100%) + Coco (100%)	0,151	30	0,080

Fuente: Elaborado mediante software SPSS versión 26

La tabla 2 muestra el análisis de normalidad para los grupos de datos realizado mediante el programa estadístico SPSS versión 26, se observa en la mayoría de datos un p-valor superior al nivel de significancia de 0,05; sin embargo, los grupos de datos del Aceite de coco al 50%, el control negativo, muestran un p-valor inferior al nivel de significancia, por lo tanto, solo estos grupos de datos no presenta una distribución normal, por tal razón, no serán considerados para las pruebas de hipótesis paramétricas.

Tabla 3. Prueba de homogeneidad de varianzas

		Levene Statistic	df1	df2	p-valor.
Diámetro del halo de inhibición	Based on Mean	0,332	8	0232	0,939
	Based on Median	0,279	8	0232	0,962
	Based on Median and with adjusted df	0,279	8	224,627	0,962
	Based on trimmed mean	0,333	8	0232	0,938

Fuente: Elaborado mediante software SPSS versión 26

La tabla 3, muestra la prueba de homogeneidad de varianzas, dicha prueba se realizó eliminando los grupos de datos no paramétricos, se observa un p-valor superior al alfa de 0.05, por lo tanto, los grupos de datos presentan homogeneidad en sus varianzas.

Tabla 4. Análisis de la varianza (ANOVA)

H1: Existe diferencia significativa en las medias de los grupos de datos

H0: No existe diferencia significativa en las medias de los grupos de datos

ANOVA					
Diámetro del halo de inhibición					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	p-valor
Between Groups	937,087	8	133,870	1264,926	0,000
Within Groups	24,553	232	0,106		
Total	961,640	239			

Fuente: Elaborado mediante software SPSS versión 26

La tabla 4 presenta el análisis de la varianza de los grupos de datos con distribución normal y varianzas homogéneas, se observa que el p-valor obtenido supera el nivel de significancia, por lo tanto, existe por lo menos un grupo que difiere de los demás.

Tabla 5. Análisis por Subgrupos homogéneos

Diámetro del halo de inhibición									
Tukey HSD ^a									
Grupos de trabajo	N	Subset for alpha = 0.05							
		1	2	3	4	5	6	7	8
Aceite de Coco (75%)	30	6,80							
Aceite de Coco (100 %)	30		9,53						
Efecto Sinérgico Matico (50%) + Coco (50%)	30			9,96					
Extracto Etanólico de Matico (50%)	30				10,35				
Actividad Sinérgica Matico (75%) + Coco (75%)	30					11,24			
Actividad Sinérgica de Matico (75%)	30						11,96		
Extracto Etanólico de Matico (100%)	30							12,40	
Actividad Sinérgica Matico (100%) + Coco (100%)	30								13,74
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.									
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 30,000.									

Fuente: SPSS ver. 26. 2020

En la tabla 5, se muestra el análisis por subgrupos homogéneos mediante la Prueba de Tukey, en la cual se demuestra que existe diferencia significativa en todos los grupos de datos analizados.

IV. DISCUSIÓN

4.1 Discusión de resultados

En el presente trabajo de investigación se evaluó la actividad sinérgica del extracto metanólico de *Piper aduncum* “matico” y el aceite de *Cocos nucifera* “Coco” frente a *Cándida albicans* mediante el método de difusión en pozo, se realizó 30 mediciones de cada tratamiento y presentaron los siguientes resultados.

En la tabla 1 se muestran los valores medios de los halos de inhibición producidos por los tratamientos a base del extracto metanólico, aceite de coco y las combinaciones de ambos sobre *Candida albicans*, además se muestra la distribución de los datos con respecto a su desviación y error estándar, de igual modo se observa los límites de variación de la media con un nivel de confianza del 95% y los valores máximo y mínimo. El extracto metanólico de matico obtuvo halos de inhibición de 12.4mm, 11.9mm y 10.3mm, el aceite de coco obtuvo halos de inhibición de 9.5mm, 6.8mm, y 6.0mm para las concentraciones del 100%, 75% y 50% respectivamente, el grupo control presentó un halo de inhibición de 6.0mm, el extracto metanólico de matico y aceite de coco juntos presentaron halos de inhibición de 9.9mm, 11.2mm y 13.7mm para las concentraciones del 50%, 75% y 100% respectivamente.

Los resultados de la tabla 1 se complementan con la figura 1 donde se observa el crecimiento del tamaño de los halos de inhibición en todos los tratamientos con respecto a la concentración de estos, el aceite de coco presenta menor efecto antimicótico a todas sus concentraciones que el extracto metanólico, la combinación de ambos compuesto no generó el efecto deseado debido que la combinación de estos dos al 50% y 75% presentaron halos de inhibición inferiores a los que produjo el extracto metanólico solo, por otro lado, la combinación al 100% de ambos produjo un efecto mayor que el extracto metanólico y aceite de coco.

Los resultados obtenidos por Tipula M. en el 2016, con respecto al extracto hidroalcohólico de *Piper angustifolium* un sinónimo del *Piper aduncum* “matico” obtuvo halos de inhibición promedio al exponerlos a *Candida albicans* por el método de Kirby Bauer a las 24 horas de $25.8\text{mm} \pm 1.4$ al 12% y de $16.8\text{mm} \pm 1.3$ al 10%, estos resultados muestran gran diferencia con los obtenidos en nuestro estudio, la explicación se plantea por el solvente empleado en el método de extracción usado, hidroalcohólica por Tipula M. y metanol de alto grado en el nuestro, lo que indicaría

que los componentes con poder antimicótico de *Piper aduncum* "matico" se extraen mejor el primer solvente.

Por otro lado, Escalante M. (2015), en su estudio expuso el aceite de coco a diferentes concentraciones a *Listeria monocytogenes* y *Listeria ivanovii* en todas se obtuvo halos de inhibición promedio inferiores a 13.2mm, sin embargo, en nuestro estudio los resultados obtenidos son inferiores al 12.5mm sobre *Candida albicans*, estos resultados diferentes pueden explicarse en la mayor sensibilidad de *Listeria monocytogenes* y *Listeria ivanovii* al aceite de coco que *Candida albicans*.

Sin embargo, Sonco R (2018), realizó un estudio sobre el efecto antimicótico del aceite de Coco sobre *Cándida albicans* utilizando un producto comercial, empleó el método de difusión en disco y encontró que no existe ningún efecto antimicótico por parte del aceite de coco al exponerlo a estas cepas de *Cándida albicans*, por el contrario, nuestro estudio muestra evidencia del efecto antimicótico del aceite de coco, aunque débil, al producir halos de inhibición pequeños, por otro lado, Sonco R, empleó un producto comercial que no muestra confiabilidad, además que el periodo de tiempo y la exposición a la luz es un factor que influye también en las propiedades de los aceites, además de usó discos de difusión los cuales pueden haber absorbido el aceite y no difundir a la placa, debido a que el aceite a temperatura ambiente es sólido.

El aceite de coco tiene un punto de fusión de 23.0 a 26°C, esto provoca que a temperatura ambiente se encuentre en estado sólido o líquido dependiendo de la temperatura del medio, en nuestra localidad generalmente las formulaciones de aceite de coco tienen una presentación pastosa y sólida²⁸.

En la tabla 2 se muestra el análisis de la prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov, para cada tratamiento, se observó que la mayoría de los datos de cada tratamiento presentaron distribución normal, excepto el tratamiento con aceite de coco al 50% y control negativo los cuales presentaron en la prueba un p-valor inferior al nivel de significancia establecido en el estudio de 0,05.

Se determino la homogeneidad de varianzas mediante la prueba estadística de Levene mostrada en la tabla 3 para verificar la variación en la recolección de los datos de cada tratamiento, en esta prueba no se consideró el control negativo ni el tratamiento con aceite de coco al 50% por tener distribución normal y no servir para el

objetivo del análisis, los resultados del p-valor obtenido nos indicaron que los datos de los grupos analizados si presentan homogeneidad en sus varianzas.

La prueba del Análisis de la varianza (ANOVA) mostrada en la tabla 4, nos permitió determinar la existencia de grupos en función a la media, se encontró un p valor inferior al nivel de significancia, por lo tanto, se confirma que existe al menos un grupo diferente en los analizados, por lo tanto, se procedió a determinar cuál de los grupos muestra diferencias significativas con los demás mediante la prueba de Tukey.

La tabla 5 muestra el análisis de la prueba de Tukey por sub grupos, en dicha prueba se observa que existe diferencia significativa en todos los grupos analizados, se observa también mayor efecto del aceite y los extracto en razón a su concentración, el efecto sinérgico del orégano y coco a las concentraciones de 50% y 75% mostró menor efecto que el extracto de orégano solo, sin embargo, el coco y orégano a la concentración de 100 mostró mejor efecto que el orégano solo a la misma concentración.

Según la escala de Duraffourd referida en el anexo G, *Candida albicans* sería sensible al extracto metanólico de *Piper aduncum* "matico" a todas las concentraciones trabajadas, pero tendría sensibilidad nula para el aceite de *Cocos nucifera* "Coco".

4.2 Conclusiones

El estudio realizado en el presente trabajo nos permite llegar a las siguientes conclusiones:

- Se determinó el efecto antimicótico del extracto metanólico de *Piper aduncum* (mático) frente a *Candida albicans* con halos de inhibición de $12.4\text{mm} \pm 0.06$, $11.9\text{mm} \pm 0.06$ y $10.3\text{mm} \pm 0.06$, para las concentraciones del 100%, 75% y 50% respectivamente.
- Se determinó el efecto antimicótico del aceite de *Cocos nucifera* (coco) frente a *Candida albicans* con halos de inhibición de $9.5\text{mm} \pm 0.06$, $6.8\text{mm} \pm 0.05$, y $6.0\text{mm} \pm 0.01$ para las concentraciones del 100%, 75% y 50% respectivamente.
- Se determinó el efecto sinérgico antimicótico del extracto etanólico de *Piper aduncum* (mático) y aceite de *Cocos nucifera* (coco) frente a *Candida albicans* solo para las concentraciones al 100%, las concentraciones del 50% y 75% no mostraron tener ningún efecto sinérgico.

4.3 Recomendaciones

- Se recomienda a los nuevos investigadores buscar y demostrar las ventajas farmacológicas de las asociaciones de las plantas medicinales en la búsqueda de alternativa de solución de enfermedades.
- Se recomienda a la población el empleo de plantas medicinales como tratamiento inicial de sus males con el objeto de reducir riesgos de automedicación y de resistencia bacteriana.
- Se recomienda a las universidades motivar la investigación en plantas medicinales para determinar nuevas alternativas de tratamiento que eviten las consecuencias que conllevan el uso inapropiado de los medicamentos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Biasoli M. Candidiasis [Internet]. 2016. Disponible en: https://www.fbioyf.unr.edu.ar/evirtual/file.php/118/materiales_2013/teoricos_2013/candidiasis_2013-1.pdf
2. Milian P. , Seife J., MORALES, R., Vazquez M.,Álvarez C. QM. Calendula officinalis L.en el tratamiento tópico de la candidiasis vaginal recurrente. Boletín Latinoam y del Caribe Plantas Med y Aromáticas. 2010;9(5).
3. Lock O, Rojas R. Química y Farmacología del Piper aduncum L. («Matico»). 2004;27-32.
4. OMS. Modelo OMS de información sobre prescripción de medicamentos: Medicamentos utilizados en las enfermedades cutáneas: Introducción. 2018.
5. Organización Mundial de la Salud. Salud bucodental. WHO. 2015;
6. Bustamante B. La carga de las enfermedades por hongos: nueva evidencia muestra el nivel del problema alrededor del mundo [Internet]. Universidad Peruana Cayetano Heredia. 2016 [citado 15 de septiembre de 2019]. Disponible en: <https://imtavh.cayetano.edu.pe/es/component/k2/item/235-la-carga-de-las-enfermedades-por-hongos-nueva-evidencia-muestra-el-nivel-del-problema-alrededor-del-mundo.html>
7. Pineda J. et al. Candidosis vaginal. Revisión de la literatura y situación de México y otros países latinoamericanos. Rev Médica Risaralda [Internet]. 2017 [citado 17 de noviembre de 2020];23(1):38-44. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/rmri/v23n1/v23n1a09.pdf>
8. Macalupú Z. Situación de la resistencia antifúngica de especies del género Candida en Perú. Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública. 2018.
9. Hernandez, S., Rueda, F., Flota A. Influencia de la aparatología ortodóntica sobre la ocurrencia de Candida spp. en la cavidad oral. Rev Chil infectología [Internet]. 2016;5. Disponible en: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182016000300007
10. Sánchez-Hernández JA, Rivera-Tapia JA, Coyotécatl-García LL, Mendoza-López E. Incidencia de Candida albicans en pacientes estudiadas en la Ciudad de Puebla, México. Acta Científica Estud. 2009;7(3):191-5.
11. DIGEMID. INFORME ETES-DAUM-DIGEMID/MINSA. Lima; 2009.
12. Álvarez H. Candida albicans en pacientes con estomatitis subprotésica del centro del adulto mayor de Chiclayo, Perú. 2017;14(2):144-8.
13. Jansen P. Piper aduncum [Internet]. Plantuse. 2017 [citado 6 de junio de 2019]. Disponible en: [https://uses.plantnet-project.org/en/Piper_aduncum_\(PROSEA\)](https://uses.plantnet-project.org/en/Piper_aduncum_(PROSEA))
14. Facciola S. Piper aduncum [Internet]. Kampong Publications; 2018 [citado 6 de junio de 2019]. 713 p. Disponible en: <http://tropical.theferns.info/viewtropical.php?id=Piper+aduncum>

15. Chevallier A. Enciclopedia de plantas Medicinales. Biblioteca educación y salud. 1997. p. 335.
16. Sociedad Química de México. F, Gamboa-León MR, Lecher JG, Arroyo-Serralta GA, Zizumbo-Villareal D, Oropeza-Salín C, et al. Revista de la Sociedad Química de México. [Internet]. Vol. 46, Revista de la Sociedad Química de México. Sociedad Química de México; 2002 [citado 23 de agosto de 2019]. 247-250 p. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0583-76932002000300012&lng=es&nrm=iso
17. Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo. Candida albicans. :4.
18. Tipula M. Efecto antifúngico del extracto hidroalcohólico de hojas del Piper angustifolium “matico” sobre cepas de Candida albicans comparada con la nistatina, estudio in vitro. Universidad César Vallejo; 2016.
19. Escalante Pereda MA. Determinación de la Sensibilidad de Listeria monocytogenes y Listeria ivanovii frente a diferentes concentraciones del aceite esencial de Cocos nucifera. Universidad Nacional de Trujillo; 2015.
20. Sonco R. Efecto antifúngico del aceite esencial de Coco Nucifera (Coco) sobre cepas de Candida albicans aislada. Arequipa. 2018. Universidad Alas Peruanas; 2018.
21. Inofuentes Z, Guillermo J, D E, Bornaz V. Efecto antimicrobiano del extracto etanólico de Piper angustifolium (matico) sobre el Enterococcus faecalis antimicrobial. Rev Odontológica Clínica la Univ Andin Néstor Cáceres Velásquez. 2019;5:8-13.
22. Zavaleta L. Efecto del extracto etanólico de hojas de Piper angustifolium (matico) sobre el crecimiento de Proteus mirabilis en condiciones de laboratorio. Universidad Nacional de Trujillo. 2018.
23. Kumar PS. Comparative evaluation of efficacy of anti fungal activity of activity of azadirachta indica , melaleuca oil and cocos nucifera oil against candida albicans incorporated in soft re. J Indian Prosthodont Soc. 2018;18(November).
24. Hernández R. Metodología de la Investigación. 6ta ed. México, D.F.: Mc Graw Hill; 2014.
25. Grove S, Gray J. Investigación en Enfermería: Desarrollo de la práctica enfermera basada en evidencia. 7ma ed. Barcelona - España: Elsevier; 2019. 487 p.
26. Gilman, Goodman. Terapéutica, Las bases farmacológicas de la Terapéutica. 12ed ed. Laurence L B, editor. Laurence Brunton. México: McGraw-Hill/Interamericana; 2014.
27. Maye B, Miguel G. El antibiograma de discos. Normalización de la Técnica de Kirby-Bauer. Biomedica. 2018;35(1):103-9.
28. Aceite de Coco; Propiedades y Efectos - DBSS [Internet]. [citado 1 de abril de 2020]. Disponible en: <https://g-se.com/aceite-de-coco-propiedades-y-efectos-bp-l58daf8196cc0d>

ANEXOS

Anexo A. Operacionalización de las variables

VARIABLE INDEPENDIENTE	DIMENSIONES	TIPO	ESCALA	INDICADORES	UNIDAD DE MEDIDA/PUNTO DE CORTE
Extracto metanólico de <i>Piper aduncum</i> (Matico) y aceite de <i>Cocos nucifera</i> (Coco)	Concentración	Cuantitativo	Ordinal	100%	Porcentaje
				75%	
				50%	
VARIABLE DEPENDIENTE	DIMENSIONES	TIPO	ESCALA	INDICADORES	UNIDAD DE MEDIDA/PUNTO DE CORTE
Efecto antimicótico frente a <i>Candida albicans</i>	Halo de inhibición	Cuantitativo	Ordinal	Nula Sensible Medio Muy sensible	≤ 8mm 8mm a 14mm 15mm a 20mm > a 20mm

Anexo B. Instrumento de recolección de datos

Placa	CONTROLES	Diámetro del halo de inhibición de <i>extracto metanólico de Piper aduncum</i> (Matico)			Diámetro del halo de inhibición del aceite de <i>Cocos nucifera</i> (Coco)			EFECTO SINERGICO		
	Control Negativo (DMS)	50%	75%	100%	50%	75%	100%	50%	75%	100%
1										
2										
3										
4										
5										
6										
7										
8										
9										
10										
11										
12										
13										
14										
15										
16										
17										
18										
19										
20										
21										
22										
23										
24										
25										
26										
27										
28										
29										
30										

Anexo C. Clasificación taxonómica

"Año de la Universalización de la Salud"

CONSTANCIA DE IDENTIFICACIÓN TAXONÓMICA

La Bióloga Rocio del Pilar Sarmiento Castro con colegiatura del Colegio de Biólogos del Perú Nro. 6315 deja constancia que:

La muestra botánica recibida de los bachilleres César Alejandro Carrasco Castro y Leidy Diana Miranda Patiño, quienes realizan una investigación en la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad María Auxiliadora – San Juan de Lurigancho; ha sido estudiada e identificada como: *Piper aduncum* L. (Matico) y tiene la siguiente posición taxonómica según el sistema de clasificación APG III (Angiosperm Phylogeny Group).

Clase: Equisetopsida
Orden: Piperales Bercht. & J. Presl
Familia: Piperaceae Giseke
Género: *Piper* L.
Especie: *Piper aduncum* L.

Nombre vulgar: "Matico"

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada para los fines que considere pertinente.

Lambayeque, 20 de octubre del 2020



Blogo. Rocio Sarmiento Castro
C.B.P. 6315

CONSTANCIA DE IDENTIFICACIÓN TAXONÓMICA

La Bióloga Rocio del Pilar Sarmiento Castro con colegiatura del Colegio de Biólogos del Perú Nro. 6315 deja constancia que:

La muestra botánica recibida de los bachilleres César Alejandro Carrasco Castro y Leidy Diana Miranda Patiño, quienes realizan una investigación en la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad María Auxiliadora – San Juan de Lurigancho; ha sido estudiada e identificada como: *Cocos nucifera* L. (Coco) y tiene la siguiente posición taxonómica según el sistema de clasificación APG III (Angiosperm Phylogeny Group).

Clase: Equisetopsida
Orden: Arecales Bromhead
Familia: Arecaceae Bercht. & J. Presl
Género: *Cocos* L.
Especie: *Cocos nucifera* L.

Nombre vulgar: "Coco"

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada para los fines que considere pertinente.

Lambayeque, 20 de octubre del 2020


 
Blogo. Rocio Sarmiento Castro
C.B.P. 6315

Anexo D. Certificado de análisis de la cepa



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

Specifications Microorganism Name: <i>Candida albicans</i> Catalog Number: 0443 Lot Number: 443-1008** Reference Number: ATCC® 10231™** Purity: Pure Passage from Reference: 3	Expiration Date: 2021/2/28 Release Information: Quality Control Technologist: Alexandra D Stensvad Release Date: 2019/3/18
---	---

Performance	
Macroscopic Features: Small to medium, white, circular, convex, dull colonies. Microscopic Features: Gram positive, ovoidal, budding yeast cells.	Medium: Nutrient Method: Gram Stain (1)
ID System: MALDI-TOF (1) See attached ID System results document.	Other Features/ Challenges: Results (1) Germ Tube Test: positive (1) Chlamydospore production: positive  Amanda Kuperus Quality Control Manager 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.

Note for Vitek®: Although the Vitek® panel uses many conventional tests, the unique environment of the card, combined with the short incubation period, may produce results that differ from published results obtained by other methods.

⚠ 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 17025:2005.



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)	High consistency: 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)	Low consistency: 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 the genus is identical to the best match or (2) a non-identification.
(C)	No consistency: The requirements for high or low consistency are not met.

Sample Name: *Candida albicans*
 Sample Description: 0443
 Sample ID: 443-1006
 Sample Creation Date/Time: 2019-03-06T14:55:06.305 ADS
 Applied MSP Library(ies): BDAL, Mycobacteria Library (bead method), Filamentous Fungi Library, Listeria

Sample Name	Sample ID	Organism (best match)	Score Value
A2 (+++)(A)	443-1006	<i>Candida albicans</i>	2.11

Comments:

n/a

Anexo E. Evidencias fotográficas del trabajo de campo



Figura 2. Recolección, lavado y secado de la muestra vegetal

OBTENCIÓN DEL EXTRACTO METANÓLICO DE *Piper aduncum* “Matico”



Figura 3. Triturado de la muestra vegetal



Figura 4. Pulverizado y tamizado de la muestra vegetal



Figura 5. Preparación del macerado



Figura 6. Filtración del macerado



Figura 7. Evaporación del filtrado

OBTENCIÓN DEL ACEITE DE *Cocos nucifera* “Matico”



Figura 8. Pelado, secado y rayado del coco



Figura 9. Extracción del aceite de coco por prensado en frío



Figura 10. Extracto y aceite a diferentes concentraciones

ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO:

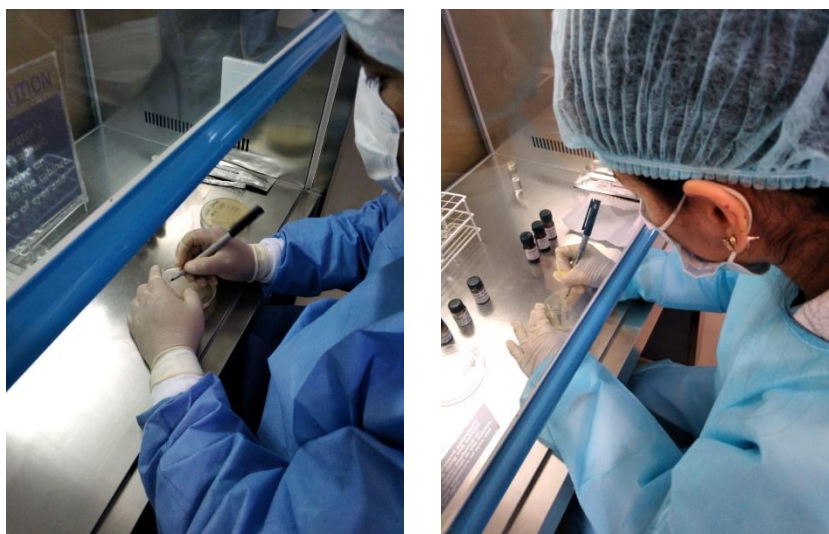


Figura 11. Preparación del material de trabajo

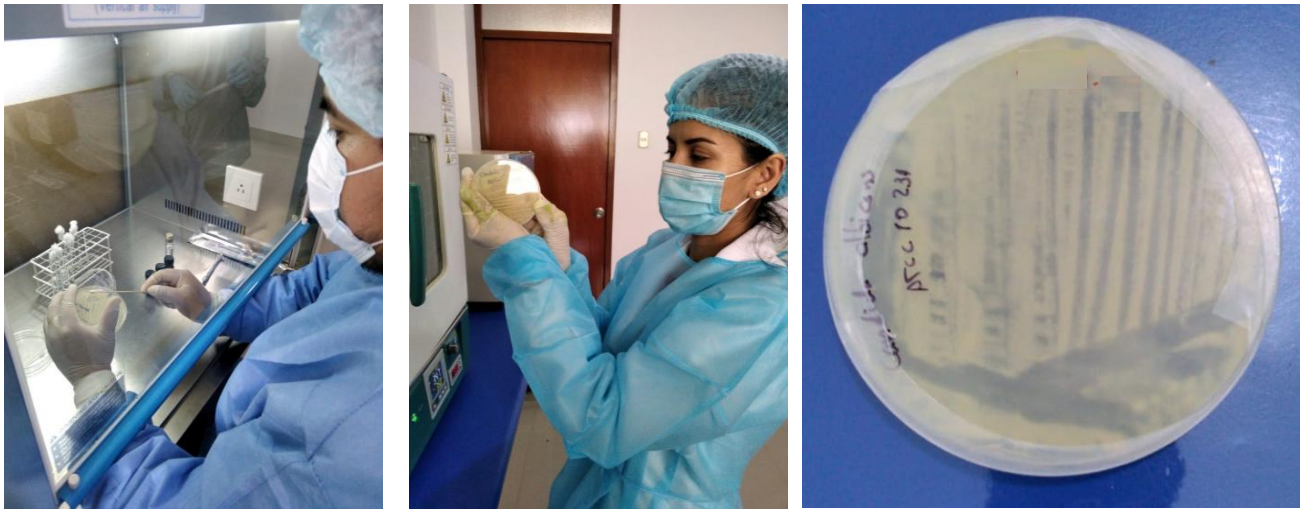


Figura 12. Activación de la cepa *Candida albicans* ATCC 10231

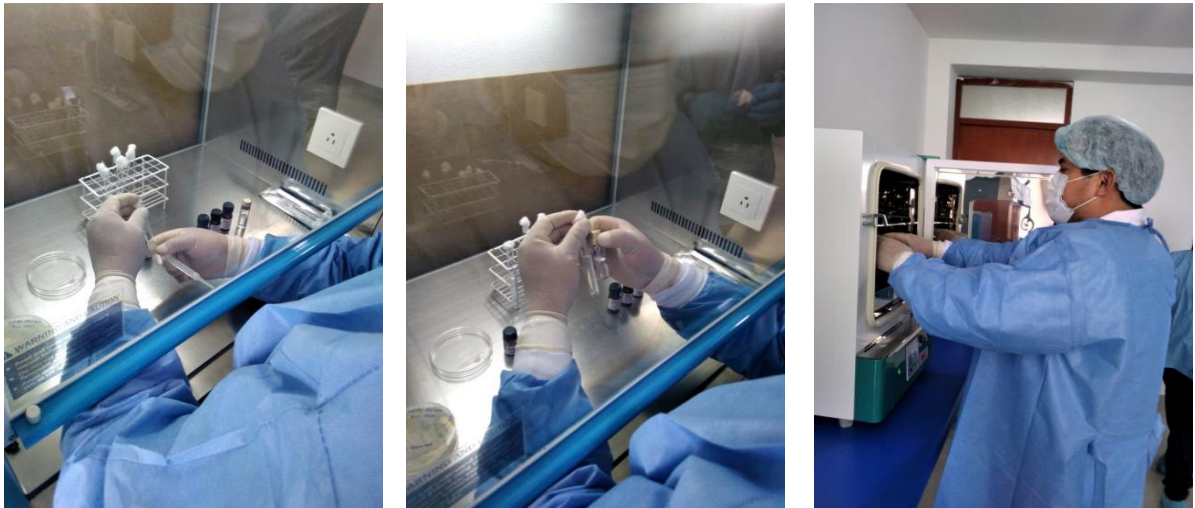


Figura 13. Preparación del inóculo, sembrado en placa e incubación

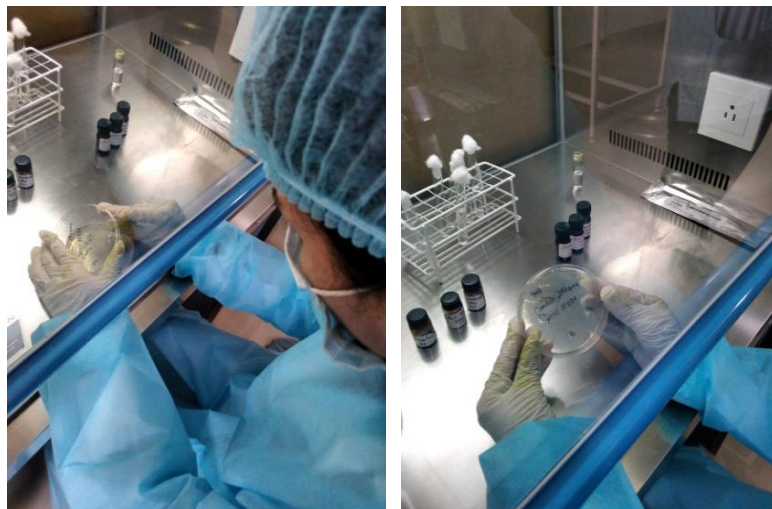


Figura 14. Preparación de los pozos

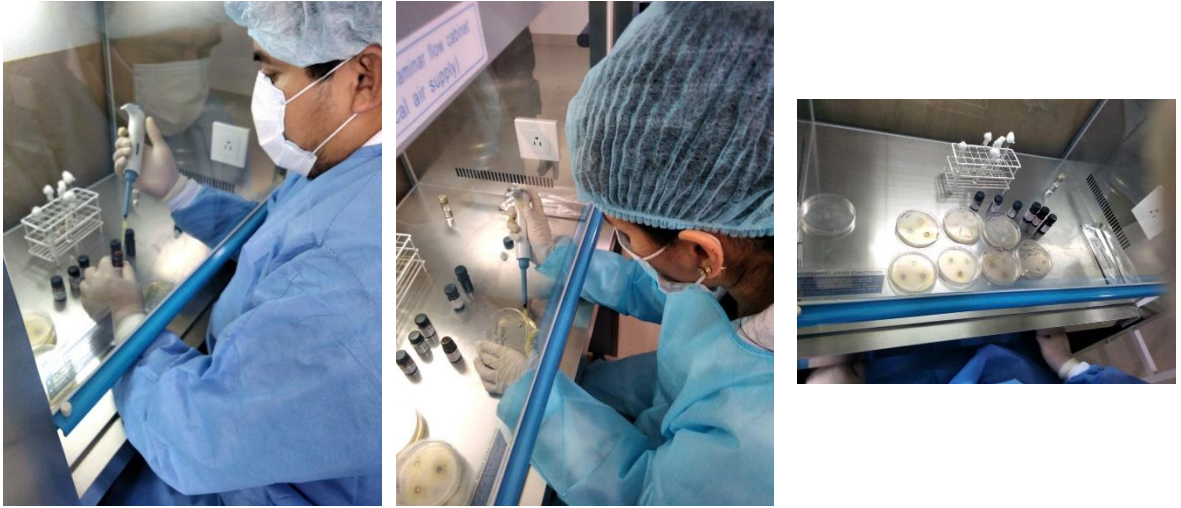


Figura 15. Aplicación de los extractos y aceite



Figura 16. Medición de los halos de inhibición

Anexo F. Resultados de la Sensibilidad bacteriana

Placa	CONTROLES	Diámetro del halo de inhibición de <i>extracto metanólico de Piper aduncum</i> (Matico)			Diámetro del halo de inhibición del aceite de <i>Cocos nucifera</i> (Coco)			EFECTO SINERGICO		
	Control Negativo (DMS)	50%	75%	100%	50%	75%	100%	50%	75%	100%
1	6,0	9,7	11,9	12,0	6,0	7,0	9,9	9,8	11,3	14,6
2	6,1	9,8	12,0	12,6	6,0	7,1	9,9	9,8	11,5	13,7
3	6,0	10,6	12,1	12,2	6,0	7,1	9,4	10,4	11,1	13,8
4	6,0	9,9	12,3	12,4	6,0	6,5	9,5	9,6	11,6	13,6
5	6,0	10,5	11,9	13,0	6,0	6,6	9,8	9,9	11,9	14,2
6	6,1	10,5	12,0	12,0	6,0	6,5	9,7	9,4	11,5	13,6
7	6,0	10,9	11,6	12,7	6,1	6,8	9,8	10,0	11,3	13,8
8	6,0	10,3	12,4	12,1	6,0	6,6	9,0	9,8	11,3	13,5
9	6,0	10,8	11,5	12,8	6,0	6,3	9,4	10,2	11,5	13,7
10	6,2	10,6	12,1	11,9	6,0	7,0	9,7	9,7	11,6	14,2
11	6,0	10,3	12,6	12,0	6,1	7,3	9,1	10,3	11,0	13,5
12	6,0	10,2	12,3	12,0	6,0	6,8	9,6	9,7	10,9	13,7
13	6,0	10,5	11,8	12,9	6,0	6,6	8,9	10,1	10,8	13,5
14	6,0	10,2	12,3	12,2	6,0	6,8	9,7	9,7	11,4	13,9
15	6,0	10,6	12,2	12,5	6,0	6,3	9,3	10,7	11,7	13,9
16	6,0	9,8	11,5	12,1	6,1	6,9	9,9	9,9	11,0	14,1
17	6,0	10,2	12,0	12,2	6,0	6,9	9,4	10,0	11,2	13,3
18	6,0	10,4	11,7	12,4	6,0	6,4	9,6	10,3	10,9	13,5
19	6,0	10,3	11,6	12,0	6,2	7,4	9,1	9,9	11,0	13,6
20	6,0	10,0	11,3	12,9	6,0	7,0	9,5	9,7	11,2	14,0
21	6,0	10,3	12,2	12,7	6,0	6,6	9,8	10,0	10,8	13,9
22	6,0	10,2	12,6	12,1	6,0	6,8	9,4	10,2	11,6	14,2
23	6,0	9,9	11,9	12,4	6,0	6,9	9,3	9,8	11,4	13,7
24	6,0	11,0	11,9	12,5	6,0	6,7	10,1	9,8	11,3	13,7
25	6,0	10,7	11,5	12,9	6,0	6,9	9,0	10,0	11,1	13,4
26	6,0	10,2	11,8	12,8	6,0	7,1	10,0	10,5	10,9	13,2
27	6,0	10,5	12,0	12,5	6,0	6,5	9,6	10,2	11,6	14,3
28	6,0	10,8	11,9	12,3	6,0	7,0	9,0	9,5	11,3	13,6
29	6,0	10,7	12,3	12,6	6,0	6,8	9,9	9,5	11,2	13,5
30	6,0	10,3	11,7	12,3	6,0	6,9	9,6	10,5	10,4	13,1

Anexo G. Escala de Duraffourd

Sensibilidad antibacteriana	Diámetro del halo e inhibición			
	-	+	++	+++
Nula	≤ 9 mm			
Sensible	9–14 mm			
Muy sensible	15-19 mm			
Sumamente sensible	≥ 20 mm			

Elaborada por el investigador