



FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

**ACTIVIDAD ANTIMICÓTICA *IN VITRO* DEL EXTRACTO
HIDROALCOHÓLICO DE LA CORTEZA DE *Calycophyllum
spruceanum* (benth) hook.f.ex k Schuman (capirona de
altura) FRENTE A LA CEPA DE *Candida albicans* ATCC 2091**

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

AUTORES

Bach. COLQUE MANYA, LEONARDO
<https://orcid.org/0000-0002-4424-7684>

Bach. ARIAS HUESEMBE, LEDDY
<https://orcid.org/0000-0001-7653-340X>

ASESOR:

Dr. VILCHEZ CACEDA, HECTOR ALEXANDER
<https://orcid.org/0000-0001-7094-0821>

LIMA – PERÚ

2021

DEDICATORIA

A Dios, a mi madre, que desde el cielo me ilumina y me envía sus energías, con su aliento permanente y positiva percepción hace que uno surja mucho más, por estar siempre a mi lado en cada instante de mi existencia, a mi hijo Shamir por acompañarme en las adversidades de este ciclo vital.

Leonardo Colque Manya

A Dios, a mi madre Teodocia por brindarme el apoyo incondicional durante mi formación profesional y por ser mi motivo para seguir adelante hasta llegar a la meta, a mi hijo Mauricio por su comprensión durante todo este tiempo le dedico este triunfo con amor.

Leddy Arias Huesembe

AGRADECIMIENTO

Primeramente, a Dios nuestro amigo, guía, profesor y consolador. Por permitirnos lograr nuestro objetivo, con él todo es posible a pesar de las adversidades en todo estos años transcurridos de formación en nuestra carrera, hemos aceptado los desafíos hasta lograr nuestra meta.

A nuestros familiares y asesores por compartir sus experiencias y sus amplios conocimientos para ayudarnos a terminar nuestro proyecto .

A la Bióloga María Yáñez, Ing. Manuel Cumpa por guiarnos y por su paciencia en todo este proceso.

Leonardo Colque Manya
Leddy Arias Huesembe

índice General

	Páginas
Resumen	viii
Abstract	ix
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MATERIALES Y MÉTODOS	8
2.1 Enfoque y diseño de la investigación	8
2.2 Población, muestra y muestreo	8
2.3 Variables de investigación	9
2.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos	10
2.5 Proceso de recolección de datos	10
2.6 Métodos de análisis estadístico	13
2.7 Aspectos éticos	13
III. RESULTADOS	14
IV. DISCUSIÓN	21
4.1 Discusión de resultados	21
4.2 Conclusiones	22
4.3 Recomendaciones	23
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	24
ANEXOS	33

índice de Tablas

Tabla 1. Solubilidades del extracto hidroalcohólico	14
Tabla 2. Marcha fitoquímica del extracto hidroalcohólico de <i>Calycophyllum Spruceanum (benth) hook.f.ex k Schumann</i> (capirona de altura)	15
Tabla 3. Resultado del análisis <i>in vitro</i> por el método Kirby Bauer a concentración de 14 %	15
Tabla 4. Resultado del análisis <i>in vitro</i> por el método Kirby Bauer a concentración de 28 %	16
Tabla 5. Resultado del análisis <i>in vitro</i> por el método Kirby Bauer a concentración de 50 %	16
Tabla 6. Resultado del análisis <i>in vitro</i> por el método Kirby Bauer control positivo	17
Tabla 7. Resultado del análisis <i>in vitro</i> por el método Kirby Bauer control negativo	17
Tabla 8. Análisis de varianza anova	18
Tabla 9. Análisis tukey HSD para comparaciones múltiples	19
Tabla 10. Análisis tukey para comparaciones múltiples por subgrupos	19
Tabla 11. Escala Duraffourd de los extractos hidroalcohólico de la corteza capirona de altura frente a <i>Candida albicans</i> ATCC 2091.	20

Índice de Figuras

Figura 1. Especie vegetal	4
Figura 2. Resultados de la marcha fitoquímica	42
Figura 3. Reactivos para el tamizaje fitoquímico	42
Figura 4. Preparación del medio de cultivo	43
Figura 5. Participando en la elaboración del medio del cultivo	43
Figura 6. Autoclavado de los materiales	44
Figura 7. Preparación de las placas	44
Figura 8. Rotulando las placas	45
Figura 9. Realizando la prueba de solubilidad	45
Figura 10. Medición de los halos de inhibición	46
Figura 11. Muestra recolectada y seca	46
Figura 12. Pesando la muestra	47
Figura 13. Dilución del extracto	47
Figura 14. En el laboratorio QUÍMICA LAB	48
Figura 15. En el laboratorio QUÍMICA LAB	48

Índice de Anexos

Anexo A. Operacionalización de la variable	36
Anexo B. Instrumento de recolección de datos	37
Anexo C. Certificado de Identificación Taxonómica	38
Anexo D. Certificado de la marcha fitoquímica del extracto hidroalcohólico de <i>Calycophyllum Spruceanum (benth) hook.f.ex k Schumann</i> (capirona de altura)	40
Anexo E. Certificado de análisis de la cepa <i>Candida albicans</i>	41
Anexo F. Constancia de participación en elaboración de extracto hidroalcohólico de la corteza de <i>Calycophyllum Spruceanum (benth) hook.f.ex k Schuman</i> (capirona de altura)	42
Anexo G. Constancia de práctica en el laboratorio microbiológico	43
Anexo H. Evidencias fotográficas	44

RESUMEN

Objetivo: Evaluar la actividad antimicótica *in vitro* del extracto hidroalcohólico de la corteza del *Calycophyllum spruceanum* (Benth) Hook.f.ex. K Schuman. (capirona de altura) contra la cepa de *Candida albicans* ATCC 2091.

Métodos: Se efectuó por medio del método de difusión en agar (KIRBY BAUER) con discos impregnados con los extractos a concentraciones de 50, 28 y 14 % contra la cepa de *Candida albicans* ATCC 2091, 30 repeticiones para cada extracto y se empleó fluconazol como control positivo, se realizó la lectura de halos a las 24 horas después de la incubación.

Resultado: El extracto hidroalcohólico de *Calycophyllum spruceanum* (Benth) Hook.f.ex. K Schuman. (capirona de altura) presentó actividad antimicótica sobre la levadura. El extracto hidroalcohólico de Capirona presentó a concentraciones de 50 % un halo de $16,6 \pm 1,14$ mm, 28 % un halo de $13,4 \pm 0,54$ mm y al 14 % un halo de $10,6 \pm 0,54$ mm contra *Candida albicans* ATCC 2091, observándose que el extracto hidroalcohólico al 50 % presenta mayor halo de inhibición .

Conclusiones: Se concluye que el extracto hidroalcohólico de *Calycophyllum spruceanum* (Benth) Hook.f.ex. K Schuman. (capirona de altura) presenta actividad antimicótica contra la cepa *Candida albicans* ATCC 2091.

Palabras claves: *Calycophyllum spruceanum*, actividad antimicótica, fluconazol.

ABSTRACTO

Objective: To evaluate the in vitro antifungal activity of the hydroalcoholic extract from the bark of *Calycophyllum spruceanum* (Benth) Hook.f.ex. K Schuman. (tall capirona) against the strain of *Candida albicans* ATCC 2091.

Methods: It was carried out by means of the agar diffusion method (KIRBY BAUER) with discs impregnated with the extracts at concentrations of 50, 28 and 14 % against strains of *Candida albicans* ATCC 2091, 30 repetitions for each extract and fluconazole was used as a positive control, halos reading was performed 24 hours after incubation.

Results: The hydroalcoholic extract of *Calycophyllum spruceanum* (Benth) Hook.f.ex. K Schuman. (tall capirona) exhibited antifungal activity on yeast. The hydroalcoholic extract of Capirona presented at concentrations of 50 % a halo of 16.6 ± 1.14 mm, 28 % a halo of 13.4 ± 0.54 mm and at 14 % a halo of 10.6 ± 0.54 mm against *Candida albicans* ATCC 2091, observing that the 50 % hydroalcoholic extract presents a greater inhibition halo.

Conclusions: It is concluded that the hydroalcoholic extract of *Calycophyllum spruceanum* (Benth) Hook.f.ex. K Schuman. (high altitude capirona) shows antifungal activity against the *Candida albicans* ATCC 2091 strain.

Keywords: *Calycophyllum spruceanum* , antifungal activity, fluconazole.

I. INTRODUCCIÓN

La infección por micosis se ha aumentado con constancia y consideración entre los últimos períodos, existe una elevada tasa de letalidad, naturalmente debido a la candidemia; el género que más frecuentemente origina es la *Candida* con un 20 % de los casos, en comparación con otros hongos patógenos en un 80 % de los casos. ¹⁻².

La Organización Mundial de la Salud (OMS) considera anualmente más de 300 millones de casos inéditos de candidemia, mayormente en los países en vías de desarrollo, pero también incluye en estados miembros de la Unión Europea³.

Según la Organización Panamericana de la Salud (OPS), en algunas regiones del mundo se precisó un alto grado de resistencia a los tres tipos de antimicóticos utilizados en el tratamientos de la micosis⁴.

Por lo tanto 1 557 de sucesos corresponden a *Candida albicans*. Se resta importancia debido a la falta de datos a nivel mundial, además por la falta de sistema de vigilancia epidemiológica de enfermedades fúngicas ⁵.

En el Perú, según estudios se apreció un total de 581 174 casos de infecciones fúngicas en su mayoría pacientes críticamente comprometidos⁶.

Investigaciones ejecutadas en tres nosocomios de Lima y Callao concluyeron que el principal agente etiológico de producir la candidiasis es la *Candida albicans* en un 27, 08 % en comparación con otras especies . Además determinaron que algunas especies de *Candida* son resistentes al fluconazol y sensibles a anidulafungina y anfotericina B⁷⁻⁸

Existen numerosos fármacos antifúngicos como anfotericina B, clotrimazol, itraconazol y ketoconazol⁹.

En el Perú contamos con una enorme diversidad de recursos vegetales con sus diferentes principios activos y acciones farmacológicas fundamentales para tratar diversas enfermedades ¹⁰.

El uso de plantas medicinales es cada vez más conocida y ha aumentado su uso en los últimos tiempos, por sus diferentes propiedades terapéuticas.

En esta región de Madre de Dios acuden a la medicina tradicional para tratar los síntomas comunes o como tratamiento alternativo¹¹⁻¹².

La familia *Calycophyllum spruceanum* presenta 46 especies, por lo cual 2 son autóctonas del Perú¹³.

La capirona es una especie heliófila que se halla muy distribuida en los bosques tropicales de la región de Madre de Dios y al alcance de los pobladores especialmente en las zonas rurales y por sus bondades farmacológicas, que por tal razón lo utilizan como medicina tradicional ¹⁴.

La familia de la capirona (*Calycophyllum spruceanum*) es Rubiaceae, es una planta alta que llega a crecer hasta 30 m, posee tronco recto, hojas simples, oblongas y glabras, se hallan en áreas forestales donde no han tenido la intervención humana y en algunos casos se encuentran en bosque han sido salvados de la tala de árboles y lo hallamos en las selvas peruanas, Bolivianas y Brasileñas¹⁵, en áreas habitualmente pantanosas y en formaciones ambientales en montes xerófilos, montes mojados tropicales, montes muy mojados tropicales por debajo de los 1 200 m.s.n.m ¹⁶.

Los usos tradicionales de la especie vegetal que se conocen son :

- Cicatrizante, corteza rayada en emplasto
- Hipoglucemiante, tomarlo en infusiones la corteza

- Fungicida, en polvo seco (corteza)¹⁷.

Los recursos vegetales en investigación contienen terpenos, taninos, fenoles y saponinas¹⁸.

La levadura es diploide, tiene la forma de ascomiceto cuyas medidas son 3 a 5 μm , el género *Candida* se presenta en diferentes formas como levadura llamada también blastosporas, hifas y pseudohifas.

La morfología de blastosporas tiene la particularidad comensal de *Candida albicans*, por lo tanto la morfología de hifas pueden causar diversas patologías, sin embargo la más común en nuestro organismo es la *Candida albicans*¹⁹.



Figura 1. *Calycophyllum spruceanum* (Benth) Hook f. ex K. Schuman (capirona de altura)

A continuación mencionamos las siguientes referencias del presente estudio:

Roca M. (2019), evaluó el efecto antibacteriano y antifúngico del extracto de las hojas y corteza de *Calycophyllum spruceanum* (Benth) Hook f. ex

Schumann(capirona de altura). Con mayor efectividad fueron las hojas, a concentraciones 50 y 100 mg/mL para ello emplearon microorganismos de varias especies *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans* y *Sporothrix schenckii*. Ambos extractos de las hojas y corteza demostraron actividad antifúngica²⁰.

Gamboa et al (2020), investigaron la actividad cicatrizante del gel a base del extracto etanólico de la corteza de *Calycophyllum spruceanum* (Benth) Hook f y la toxicidad dérmica, donde los resultados a concentración de 2% obtuvo mayor eficacia de cicatrización 90% a comparación con la crema Contratubex (62,4%); y en la evaluación toxicológica no presentó ninguna, toxicidad dérmica²¹.

Zevallos et al (2021), Desarrollaron la actividad cicatrizante del extracto hidroalcohólico de *calycophyllum spruceanum* (capirona de bajío) en ratones albinos .Donde obtuvieron la actividad cicatrizante del extracto hidroalcohólico de la corteza de capirona al 5 % fue similar (crema bepanthen) en ratones albinos²² .

Peixoto H, et al (2018), Demostraron la actividad antioxidante de corteza de *Calycophyllum spruceanum* (Benth) Hook f. ex Schumann(capirona de altura) a concentración de 200 µg/mL ,resultó a 77% comparado con los antioxidantes estándar como la vitamina C y el polifenol galato de epigallocatequina²³.

Cadena K, et al (2017), determinaron el efecto antifúngico del extracto Hidroalcohólico de *Uncaria tomentosa* (uña de gato) *in vitro*, a concentración al 100

% mostro sensibilidad fúngica con un halo de inhibición de $16,50 \pm 1,06$ mm frente a la cepa de *Candida albicans*²⁴.

Barros da Silva A, et al (2018), Estudiaron el efecto antiinflamatorio de la corteza de *Calycophyllum spruceanum* (Benth) Hook f. ex Schumann(capirona) donde se evidenciaron los siguientes resultados, mostró un efecto antinociceptivo, reduciendo el número de retorcimientos inducidos por ácido acético además inhibió el edema provocado por a carragenina (48 %) como por la PG2 a 92 %²⁵.

En el Perú, se utiliza la medicina tradicional desde tiempos muy antiguos en base a nuevas opciones terapéuticas con el objetivo de tener resultados confiables. En la región de Madre de Dios contamos con una alta prevalencia de micosis por tal motivo se ha remarcado la necesidad de realizar la presente investigación de la planta de la capirona .

Al realizar el estudio con cepas de *Candida albicans*, los resultados obtenidos fueron de vital importancia para garantizar su uso medicinal como antimicótico para la población que tiene bajos recursos económicos²⁶.

El objetivo general del estudio fue evaluar la actividad antimicótica *in vitro* del extracto hidroalcohólico de la corteza del *Calycophyllum spruceanum* (Benth) Hook.f.ex. K Schumann. (capirona de altura) contra la cepa de *Candida albicans* ATCC 2091.

La hipótesis general del estudio fue : El extracto Hidroalcohólico de la corteza de *Calycophyllum spruceanum* (benth)hook.f.ex k Schuman.(capirona de altura) mostrará la actividad antimicótica frente a la cepa de *Candida albicans* ATCC 2091.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 ENFOQUE Y DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

Enfoque: Cuantitativo, por que se realizó con una secuencia de método los cuales se ensayaron las variables y se efectuó la medición numérica .

Experimental: Puesto que se procedió a introducir el extracto hidroalcohólico *Calycophyllum spruceanum* (Benth) Hook f. ex K. Schuman (capirona de altura) para determinar la actividad antifúngica.

Explicativo: Se analizó lo que sucedió en el acontecimiento. Se valoró la actividad antifúngica del extracto hidroalcohólico de la corteza de *Calycophyllum spruceanum* (Benth) Hook f. ex K. Schuman (capirona de altura) contra la cepa de *Candida albicans*. ATCC 2091.

Correlacional: Se evaluó el comportamiento de las variables de estudio .

Transversal: Porque se emplearon varias muestras y los resultados fueron obtenidos en un momento determinado ²⁷.

2.2 POBLACIÓN, MUESTRA Y MUESTREO

La población estaba constituida por 6 Kg de corteza de *Calycophyllum spruceanum* (Benth) Hook f. ex K. Schumann (capirona de altura) se recolectó en la localidad el Prado del Distrito Tambopata, Provincia Tambopata Departamento de Madre de Dios a una altitud de 198 m.s.n.m. Con la ayuda de un personal de la zona, se realizó vistiendo la indumentaria de bioseguridad sanitaria como guantes, gorro, mascarilla, facial, barbijos, casco, botas, reloj, cámara fotográficas, machete y cuaderno de registro²⁸.

Se transportó a un especialista al laboratorio de la Universidad Nacional Amazónica de Madre de Dios para su identificación botánica de la especie y posteriormente se transportó al laboratorio de Ciencias Naturales MC QUIMICA LAB. de la ciudad del Cusco para la elaboración del extracto. (ANEXO C).

El muestreo fue aleatorizado, en el lugar de recolección.

La corteza de capirona de altura, se llevó a seleccionar para evitar la presencia de algunos microorganismos contaminantes y se lavó con agua destilada, luego se procedió a secar completamente en tendales a manera de anaqueles con base de papel kraft para facilitar el proceso de secado, el cual duró 10 días²⁹.

La muestra estuvo constituida por 2 kilos de la corteza seca, luego se trituró y se pulverizó mediante el uso de mortero, luego se continuó con la elaboración del extracto en la ciudad del Cusco. Mediante el uso de alcohol al 70 % se puso en un envase de vidrio de color ambar con tapa rosca y se dejó macerar por 14 días con agitación cada 8 horas a temperatura ambiente y protegido de la luz. Transcurrido el tiempo se filtró utilizando papel whatman N° 4 y se recolectó en 03 fuentes de vidrio para luego llevarlo a secar al horno a 40 °C y se pesó³⁰⁻³¹. De esta forma se obtuvo el extracto seco.

En cuanto a la unidad de análisis microbiológico se utilizó cepas liofilizadas certificadas de *Candida albicans* ATCC 2091.

2.3 VARIABLES DE INVESTIGACIÓN

Variable independiente: Extracto hidroalcohólico de la corteza de *Calycophyllum spruceanum* (Benth) Hook f. (capirona de altura).

Definición conceptual: El extracto hidroalcohólico de la capirona de altura a concentraciones de 14 %; 28 %; 50 % .

Definición operacional: El Extracto hidroalcohólico de la corteza *Calycophyllum spruceanum* (Benth) Hook f. (capirona de altura). elaborado mediante la técnica de maceración con alcohol 70 % .

Variable dependiente: Actividad antimicótica frente a la cepa de *Candida albicans* ATCC 2091.

Definición conceptual: Inhibición del crecimiento antimicótico por la propiedad que tiene la planta de capirona de altura .

Definición operacional: La actividad se evaluó mediante el método de Discos de difusión y se midieron los halos de inhibición formados por los extractos frente la cepa de *candida albicans*.

2.4 TÉCNICAS E INSTRUMENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS

La técnica que se empleó en la indagación fue la ficha ad hoc para la recolección de los datos de la prueba de solubilidad, marcha fitoquímica y actividad antimicótica elaborado por los investigadores³².

2.5. PROCESO DE RECOLECCIÓN DE DATOS

2.5.1 Análisis previo del extracto hidroalcohólico

El análisis se realizó en el laboratorio de Ciencias Naturales MC QUIMICA LAB. De la Ciudad del Cusco. Fueron las siguientes pruebas:

a) Índice afrosimétrico: Se colocó 1.00 g de extracto seco en un tubo de ensayo y se añadió 8 mL de agua destilada, se agitó fuertemente durante 2 minutos y se realizó la valoración en cruces: 5 – 20 min (+); 20 - 25 min (++); 30 min - más (+++).

b) Determinación de pH a 25 °C: En un tubo de ensayo, se agregó 1g de extracto seco en 6 mL de agua destilada. Se disolvió en constante agitación y a temperatura 25 °C. Se midió el pH con un potenciómetro de marca HANNA.

c) Prueba de solubilidad: En cada tubo de ensayo se agregó 1.00 g de extracto seco y 4 mL de los solventes cloroformo, etanol 96 %, agua destilada, acetona³³⁻³⁴.

2.5.2 Marcha fitoquímica

Se identificó los compuestos fitoquímicos presente en la corteza *Calycophyllum spruceanum* (Benth) Hook f. ex K. Schuman (capirona de altura), mediante las siguientes reacciones: Shinoda se observó la presencia de flavonoides con un color rosado, cloruro férrico determinó los compuestos

fenólicos con un color amarillo, gelatina se halló tanino presencia de precipitación y turbidez, dragendorff se observó alcaloides con una coloración pardo naranja, borntrager se encontró quinonas y antraquinonas observando un color rojo, Según el método de Olga Lock³⁵⁻³⁶.(ANEXO D)

2.5.3 Actividad antifúngica método Kirby Bauer o antibiograma

Se realizó en laboratorio LAASA LAB por el método de difusión en agar (KIRBY BAUER),³⁷⁻³⁸ el método nos ayudó a identificar la actividad antifúngica del extracto hidroalcohólico de la corteza de *Calycophyllum spruceanum* (Benth) Hook f. ex K. Schuman (capirona de altura).

a) Preparación de los extractos a ensayar

Se pesaron 7 gramos, 14 gramos, 25 gramos del extracto seco con la ayuda de una balanza analítica y se traspasaron a diferentes fioles de 50 mL, donde se agregó etanol al 70 % hasta enrasar a 50 mL de esta manera se obtuvo las concentraciones de 14 %, 28 % y 50 %.

b) Activación de la cepa bacteriana

Se realizó la activación de la cepa liofilizada según indicaciones del laboratorio Microbiológico (ANEXO E).

c) Preparación del inóculo

Luego de la rehidratación de la cepa liofilizada se traspasó a 2 tubos de ensayos, donde se añadió 3 mL de solución salina esterilizado y con ayuda de un asa de henle esterilizado se traspasó 3 colonias de *Candida albicans* ATCC 2091 a cada uno, se mezcló hasta homogeneizar bien la colonia se incubó por 15 minutos a 37 °C pasado el tiempo se ajustó la turbidez 0,5 de la escala de McFarland³⁹⁻⁴⁰.

d) Preparación de los medios de cultivo

Se preparó el medio de cultivo Mueller Hinton agar teniendo en cuenta las medidas de seguridad y siguiendo las instrucciones específicas del fabricante ⁴¹.

Se realizó el cálculo para la preparación una vez preparado, se esterilizó en un Autoclave durante 15 minutos a 121 °C, concluido el tiempo se traspasó a diferentes placas petri con un volumen de 25 mL y luego se conservó en una incubadora a 37 °C durante 24 horas para solidificar el agar ⁴¹.

e) Inoculación de las placas

Se colocó el hisopo de algodón esterilizado dentro de suspensión del inóculo de la cepa *Candida albicans* ATCC 2091 y se frotó sobre pared del tubo para eliminar el exceso de líquido y se procedió a la siembra mediante la metodología por agotamiento en superficie, el cual se pasó de forma uniforme para obtener un buen crecimiento de las colonias sobre la superficie del agar.

f) Grupos a ensayar

Grupo I: Discos embebidos con etanol al 70 %

Grupo II: Discos embebidos con capirona al 14 %

Grupo III: Discos embebidos con capirona al 28 %

Grupo IV: Discos embebidos con capirona al 50 %

Grupo V : Discos de embebidos con fluconazol 5 ug.

Los discos elaborados con papel Whatman nº 1 de 6 mm de diámetro esterilizado⁴² se colocaron en una placas petri con ayuda de una pinza para beberlos con el extracto durante 20 minutos, transcurrido el tiempo se procedió a colocar 5 discos embebidos a cada placa petri y fue incubada a 37 °C durante 24 horas, las soluciones experimentales que actúan como control (alcohol 70 % y fluconazol 5 µg) se trabajó en condiciones asépticas.⁴³⁻⁴⁴

g) Interpretación de los resultados

Se procedió a la medición de cada halo inhibitorio con ayuda de un vernier digital marca Stanley⁴⁵. Los resultados obtenidos se midieron en milímetros según escala Duraffourd⁴⁶⁻⁴⁷.

2.6. MÉTODOS DE ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Luego de obtener los resultados del presente estudio mencionado, se realizaron las apreciaciones a través de la ciencia descriptiva⁴⁸, para evidenciar las diferencias entre las medidas de los halos de inhibición se realizó el análisis de varianza ANOVA y posteriormente se usará la prueba de TUKEY para realizar múltiples comparaciones⁴⁹⁻⁵⁰.

2.7. ASPECTOS ÉTICOS

El estudio se ejecutó según la norma HELSINKI, y también normas de buenas prácticas de laboratorio, por ser un estudio de carácter microbiológico en el medio⁵¹⁻⁵².

III.RESULTADOS

3.1 PRUEBA DE SOLUBILIDAD

Tabla 1. Solubilidades del extracto hidroalcohólico desecado

SOLVENTES	RESULTADOS
Cloroformo	+++
Etanol 70 %	+++
Agua destilada	++
Acetona	-
N-hexano	-
Metanol	-

Donde: Insoluble (-), Poco soluble (+), Soluble (++) , Muy soluble (+++)

En la tabla 1, se valoró que el extracto hidroalcohólico desecado de la corteza de *Calycophyllum spruceanum* (Benth) Hook f. ex K. human (capirona de altura), fue altamente soluble con el solvente cloroformo y etanol al 70%, Y soluble con el agua destilada.

3.2 Marcha fitoquímica

Tabla 2. Marcha fitoquímica del extracto hidroalcohólico de la capirona

CONSTITUYENTES QUÍMICOS	ENSAYO	REACCIÓN
Compuestos fenólicos	Rvo. FeCl ₃ 5 %	++
Taninos	Rvo. Gelatina 1 %	+++
Quinonas	Rvo. Borntrager	+++
Flavonoides	Rvo. Shinoda	+++
	Rvo. Cloruro de aluminio	+
Alcaloides	Rvo. Dragendorff	+
	Rvo. Otto	++
Saponinas	Poder tensoactivo	++
	Poder Emulsificante	+

Dónde: Abundante (+++), Moderado (++), Leve (+), Ausencia (-)

En la tabla 2, se puede evidenciar que en el extracto hidroalcohólico de la capirona, presenta abundantes taninos catéquicos, antraquinona, flavonoides y moderada presencia de compuestos fenólicos, alcaloides, saponinas.

3.3 Resultados del análisis *in vitro* por el método Kirby-Bauer

Tabla 3. Resultados del análisis *in vitro* por el método Kirby-Bauer a concentración 14%

Concentración: 14 %				Volumen : 20 µL.		
Microorganismo: <i>Candida albicans</i> – ATCC 2091.						
	Placa 1	Placa 2	Placa 3	Placa 4	Placa 5	Placa 6
Halos Inhibición	12,45 mm	10,48 mm	9,91 mm	11,62 mm	9,47 mm	10,48 mm
Halos Inhibición	11,25 mm	10,84 mm	9,99 mm	10,49 mm	9,09 mm	10,46 mm
Halos Inhibición	10,98 mm	9,99 mm	10,27 mm	10,18 mm	9,73 mm	10,89 mm
Halos Inhibición	11,08 mm	10,38 mm	10,28 mm	12,26 mm	9,47 mm	9,59 mm
Halos Inhibición	13,21 mm	10,07 mm	10,58 mm	10,59 mm	9,85 mm	9,68 mm
Promedios	11,79 ± 0,98*	10,35 ± 0,34*	10,20 ± 0,26*	11,02 ± 0,87*	9,5 ± 0,29*	10,22 ± 0,56*

*Media +/- SD

Tabla 4. Resultados del análisis *in vitro* por el método Kirby-Bauer a concentración de 28 %

Concentración: 28 %				Volumen: 20 µL.		
Microorganismo: <i>Candida albicans</i> - ATCC. 2091.						
Halos Inhibición	Placa 1	Placa 2	Placa 3	Placa 4	Placa 5	Placa 6
Halos Inhibición	14,35 mm	12,57 mm	10,91 mm	13,25 mm	11,52 mm	14,16 mm
Halos Inhibición	14,52 mm	12,55 mm	11,45 mm	13,26 mm	12,43 mm	13,00 mm
Halos Inhibición	14,54 mm	12,31 mm	11,91 mm	13,42 mm	12,92 mm	12,94 mm
Halos Inhibición	14,04 mm	12,49 mm	10,72 mm	13,52 mm	12,70 mm	13,14 mm
Halos Inhibición	13,79 mm	12,19 mm	10,64 mm	14,40 mm	12,84 mm	13,32 mm
Promedios	14,24 ± 0,35*	12,42 ± 0,16*	11,12 ± 0,54	13,57 ± 0,47*	12,48 ± 0,56*	13,31 ± 0,49*

*Media +/- SD

Tabla 5. Resultados del análisis *in vitro* por el método Kirby-Bauer a concentración de 50 %

Concentración: 50 %		Volumen : 20 µL.				
Microorganismo: <i>Candida albicans</i> - ATCC 2091.						
	Placa 1	Placa 2	Placa 3	Placa 4	Placa 5	Placa 6
Halos Inhibición	16,21mm	15,01 mm	16,75 mm	16,29 mm	16,31 mm	17,16 mm
Halos Inhibición	14,98 mm	14,96 mm	16,66 mm	16,55 mm	16,60 mm	16,85 mm
Halos Inhibición	14,84 mm	15,44 mm	16,98 mm	17,45 mm	16,45 mm	17,87 mm
Halos Inhibición	13,79 mm	16,18 mm	15,69 mm	15,03 mm	17,61 mm	15,13 mm
Halos Inhibición	16,44 mm	14,90 mm	15,92 mm	16,47 mm	15,10 mm	17,06 mm
Promedios	15,24 ± 1,08*	15,29 ± 0,53*	16,4 ± 0,56*	16,35 ± 0,86*	16,41 ± 0,89*	16,81 ± 1,01*

*Media +/- SD

Tabla 6. Resultados del análisis *in vitro* por el método Kirby-Bauer control positivo.

Control positivo: Fluconazol						
Concentración: 5 µg						
	Placa 1	Placa 2	Placa 3	Placa 4	Placa 5	Placa 6
Halos Inhibición	19 mm	19 mm	17 mm	17 mm	18 mm	21 mm
Halos Inhibición	21 mm	19 mm	19 mm	17 mm	17 mm	18 mm
Halos Inhibición	18 mm	21 mm	19 mm	17 mm	17 mm	17 mm
Halos Inhibición	17 mm	18 mm	21 mm	19 mm	19 mm	17 mm
Halos Inhibición	17 mm	17 mm	18 mm	19 mm	19 mm	19 mm
Promedio	18,4 ± 1,67*	8,8 ± 1,48*	18,8 ± 1,48*	18,4 ± 1,67*	19 ± 1*	18,4 ± 1,67*

*Media +/- SD

Tabla 7. Resultados del análisis *in vitro* control negativo

Control Negativo: Alcohol 70 %						
	Placa 1	Placa 2	Placa 3	Placa 4	Placa 5	Placa 6
Halos Inhibición	3 mm	3 mm	4 mm	4 mm	2 mm	3 mm
Halos Inhibición	3 mm	3 mm	4 mm	3 mm	3 mm	4 mm
Halos Inhibición	4 mm	4 mm	2 mm	3 mm	3 mm	4 mm
Halos Inhibición	4 mm	3 mm	3 mm	4 mm	4 mm	2 mm
Halos Inhibición	2 mm	3 mm	3 mm	4 mm	4 mm	2 mm
Promedios	3,2 ± 0,83	3,2 ± 0,45	3,2 ± 0,84	3,6 ± 0,55	3,2 ± 0,84	3 ± 1

*Media +/- SD

Tabla 8. Análisis de varianza para las variables de estudio

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Alcohol 70 %	30	96	3,2	0,51
Extracto 14 %	30	401	13,37	0,38
Extracto 28 %	30	506	16,87	1,64
Extracto 50 %	30	513	17,1	2,09
Fluconazol	30	555	18,5	1,98

Análisis de varianza

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	4647,96	4	1161,99	880,14	0,05	2,43
Dentro de los grupos	191,4333333	145	1,32			
Total	4839,393333	149				

Fuente: Excel 2016

Según la Tabla 8, el valor P. de la prueba ANOVA es 0,00; es menor al valor alfa 0,05; por lo tanto, se rechaza la hipótesis nula. Es decir, El extracto Hidroalcohólico de la corteza de *Calycophyllum spruceanum* (benth) hook.f.ex k Schumam.(capirona de altura) presenta actividad antimicótica frente a la cepa de *Candida albicans* ATCC 2091.

Tabla 9. Prueba Tukey HSD para comparaciones múltiple

TUKEY HSD/KRAMER			alpha	0,05	
group	mean	n	ss	df	q-crit
Alcohol 70 %	3,2	30	14,8		
Extracto 14 %	13,37	30	10,97		
Extracto 28 %	16,87	30	47,47		
Extracto 50 %	17,1	30	60,7		
fluconazol	18,5	30	57,5		
		150	191,43	145	3,91

Tabla 10. Prueba Tukey para comparaciones múltiples por subgrupos

group 1	group 2	mean	std err	q-stat	Lower	upper	p-value	mean-crit	Cohen d
Alcohol 70 %	Extracto 4 %	10,16	0,20	48,46	9,34	10,98	0,00	0,819	8,84
Alcohol 70 %	Extracto 8 %	13,66	0,20	65,15	12,84	14,48	0,00	0,819	11,89
Alcohol 70 %	Extracto 50 %	13,9	0,20	66,26	13,08	14,71	0,00	0,819	12,09
Alcohol 70 %	fluconazol	15,3	0,20	72,93	14,48	16,11	0,00	0,819	13,31
Extracto 14 %	Extracto 28 %	3,5	0,20	16,68	2,68	4,31	0,00	0,819	3,04
Extracto 14 %	Extracto 50 %	3,733	0,20	17,8	2,91	4,55	0,00	0,819	3,24
Extracto 14 %	fluconazol	5,133	0,20	24,47	4,31	5,95	0,00	0,819	4,46
Extracto 28 %	Extracto 50 %	0,233	0,20	1,112	-0,58	1,052	0,93	0,819	0,20
Extracto 28 %	fluconazol	1,633	0,20	7,786	0,81	2,45	0,00	0,819	1,42
Extracto 50 %	fluconazol	1,4	0,20	6,674	0,58	2,219	0,00	0,819	1,21

En los análisis de TUKEY, se observó diferencias significativas con los controles positivos, negativos y a concentración de 14 % con un valor 0,00 con excepción de las concentraciones al 28 % y 50 % con un valor de $P > 0,93$ nos explica que no existe diferencia significativa en los controles.

Tabla 11. Escala Duraffourd de los extractos hidroalcohólico de la corteza capirona de altura frente a *Candida albicans* ATCC 2091.

SENSIBILIDAD ANTIBACTERIANA	NULA (-) < 8 mm	SENSIBLE (+) > 8-14 mm	MUY SENSIBLE (++) > 14-20 mm	SUMAMENTE SENSIBLE (+++) > 20 mm
Extracto 14 %		+		
Extracto 28 %		+		
Extracto 50 %			++	
Control positivo	-			+++
Control Negativo	-			

Fuente : Elaboración propia

En la tabla 11 se observa que los halos de inhibición del extractos hidroalcohólico de *calycophyllum spruceanum* (Benth) Hook f. ex K. Schuman (capirona de altura) fue muy sensible .

IV. DISCUSIÓN

4.1 Discusiones de resultados

En la investigación llevada a cabo se determinó la actividad antimicótica de los extractos hidroalcohólicos de *calycophyllum spruceanum* empleando la cepa de *candida albicans* ATCC 2091, de modo que se elaboró a concentraciones de 14 %, 28 %, 50 %. A fin de alcanzar el objetivos se utilizó la técnica de maceración para conseguir el extracto hidroalcohólico se empleó el método de disco difusión en agar basado en kirby Bauer para definir la actividad antimicótica, los datos fueron distinguidos mediante la prueba de ANOVA Y TUKEY para afirmar la hipótesis.

Estadísticamente los datos obtenidos de los análisis de medias ANOVA(TABLA N° 8) concluyeron que los resultados de esta investigación fueron altamente significativos, observándose un $p < 0.05$ (0.000) donde señala que existe diferencia estadística en los diferentes grupos de estudio.

Según estudio realizado a *Callycophyllum sproceanum*, mediante análisis fitoquímicos encontraron la presencia de flavonoides y alcaloides ,quinonas, saponinas y compuestos fenolicos. Coincidieron con el hallazgo de estudio de **zevallos. et al** (2021) ²².

de , probablemente sean los responsables de la actividad que posee la especie e ⁵³.

Al realizar el análisis de la actividad antimicótica frente a la cepa de *Candida albicans* ATCC 2091 se halló que el extracto hidroalcohólico de capirona fue muy sensible según

la escala de Duraffourd con halos de inhibición de $16,6 \pm 1,14$ mm a una concentración de 50 % superior al estudio realizado por **Cadena et al** (2017) ²⁴.

El fluconazol logró mayor halo de inhibición a diferencia de la concentración al 50 % del extracto de capirona . Por los buenos resultados obtenidos se recomienda el uso del extracto hidroalcohólico de *Calycophyllum spruceanum* como alternativa de tratamiento de *Candida albicans* concordando con lo hallado según Roca (2019) ²⁰.

4.2 Conclusiones

- Los taninos catéquicos, alcaloides y flavonoides son los compuestos responsables que le dan la actividad antimicótica a la especie vegetal.
- El extracto hidroalcohólico de la corteza de *Calycophyllum spruceanum* (capirona de altura) presentó actividad antimicótica utilizando el método de disco de difusión en agar a concentraciones 28 % y al 50 % .
- El extracto hidroalcohólico de la corteza de *Callicophyllum spruceanum* a concentración de 50 % presentó actividad antimicótica frente a la cepa de *Candida albicans* ATCC 2091 con un halo de inhibición promedio de 16,5 mm y a concentraciones 28 % y 14 %, presentaron halos de inhibición similares.

Concluimos que el extracto hidroalcohólico de la corteza de *Calycophyllum spruceanum* (capirona de altura) presentó efecto Antimicótico frente a cepas de *Candida albicans* ATCC 2091.

4.3 Recomendaciones

- Proceder con los estudios toxicológicos con otros modelos experimentales.
- Realizar estudios fitoquímicos cuantitativos con el fin de determinar los metabolito secundario responsable de la actividad antifúngica.
- Efectuar estudios comparativos sobre la actividad antifúngica de las diferentes partes de *Calycophyllum spruceanum* (benth) Hook.f.ex k (capirona).

BIBLIOGRÁFICAS

1. Rodríguez L. Factores asociados a mortalidad por candidemia en pacientes hospitalizados en un hospital nacional de nivel IV. Lima-Perú. Estudio de cohorte retrospectiva 2012-2015. [Tesis para optar al grado de maestro en control de enfermedades infecciosas y tropicales]. Lima: Universidad Peruana Cayetano Heredia; 2020.

2. Lazo Santafé V, Hernández Garzon G, Méndez Yardani R. Candidiasis sistémica en pacientes críticos, Factores predictores de riesgo. Rev Med Per. 2018. [acceso: 12 /02/2021] 18(1): 126-131. Disponible en:

<http://www.scielo.org.pe/pdf/hm/v18n1/a11v18n1.pdf>

3. Montoya M. Infección vaginal por *cándida albicans* en pacientes gestantes atendidas en el área de ginecología y obstetricia del hospital Alfredo Noboa Montenegro de la provincia de Bolívar Cantón Guaranda, en el periodo de mayo 2016 - abril, 2017. [Tesis para optar al Título profesional Médico Cirujano].Ecuador: Universidad Regional Autónoma de los Andes; 2017

4. Organización Panamericana de la Salud(OPS). *Candida*, un patógeno emergente. Acciones y prevención en Colombia.Colombia:2021. [acceso: 10 /11/2021]; disponible en:

<https://www.paho.org/es/noticias/10-3-2021-candida-auris-patogeno-emergente-acciones-prevencion-colombia>

5. Olsen M, Palomino F, Regal M. Candidemia en 15 Hospitales de Perú, 2017-2019. [Tesis para optar al Título Médico Cirujano]. Lima: Universidad Peruana Cayetano Heredia; 2020.

6. Porras E, Marcatinco E. Screening fitoquímico del extracto hidroalcohólico foliar de verbena *litoralis kunth* y evaluación antifúngica in vitro en *candida albicans* [Tesis para optar al Título Químico Farmacéutico]. Lima: Universidad Interamericana; 2020.

7. Zurita Macalupú S. Situación de la resistencia antifúngica del género *Candida* en Perú. Rev med Per Salud Pub. 2018. [acceso:15 /02/2021]; 40(9): 76-82. Disponible en:

<http://www.scielo.org.pe/pdf/rins/v35n1/a19v35n1.pdf>

8. Salas Apaza A. Efecto antimicótico del aceite esencial de *minthostachys mollis* (muña) en cepas de *Candida albicans*. Rev de invest Per de la escuela de posgrado. 2015. [acceso: 12 /02/2021]; 6(2): 62-168; disponible en:

<http://revistas.unap.edu.pe/epg/index.php/investigaciones/article/view/31/84>

9. Cartón D. Actividad antifúngica de la combinación de fluconazol con otros fármacos: Un enfoque terapéutico alternativo de las candidiasis. [Tesis para optar al Título Doctoral]. España: Universidad del País Vasco / Euskal Herriko Unibertsitatea; 2018.

10. Bussmann Rainer W, Douglas Sharon P. Plantas medicinales de los Andes y la Amazonía. Perú. Rev; 2015. [acceso:14 /02/2021] 15(1):1-293;disponible en:

<http://ethnobotanyjournal.org/index.php/era/article/view/1281>

11. Gamarra N. Usos de plantas medicinales por usuarios externos del hospital Regional Hermilio Valdizán Medrano - Huánuco, 2016. [Tesis para optar al Título Profesional de Licenciada en Enfermería]. Huanuco: Universidad de Huánuco; 2016.

12. Condori Y, Tunque M. Plantas medicinales usadas durante el puerperio en las comunidades del distrito de palca a 3650 m.s.n.m. Huancavelica-2017. [Tesis para optar al Título Profesional de Obstetra] . Huancavelica ;2018.
13. Pérez F. Efecto del contenido de humedad en los residuos de madera aserrada de capirona (*calycophyllum spruceanum* benth) con el porcentaje del material volátil y humedad en el carbón vegetal. [Tesis para optar al grado de Maestro en Ciencias en Medio Ambiente, Gestión sostenible y responsabilidad social]. Ucayali: Universidad Nacional de Ucayali; 2019.
14. Dirección de Desarrollo Tecnológico Agrario Estación Experimental Agraria .Comportamiento fenológico preliminar de capirona en la provincia de San Martín, San Martín:Perú.2016. [acceso: 07/05/2021].Disponible en:
15. Instituto Nacional de Innovación Agraria. Manejo de los bosques naturales y plantaciones forestales. Perú: 2016. [acceso: el 07 de abril del 2021]. Disponible en:https://doi.org/10.1590/1983-084X/15_152
16. Abanto Rodríguez C; García Soria D; Guerra Arevalo W; Murga Orrillo H. Saldaña Ríos G; Vázquez Reátegui D,et al. Sustratos orgánicos en la producción de plantas de *Calycophyllum spruceanum* (Benth). Rev Per Agrope.2016.[acceso:08/04/2021];7(3)341–347.Disponible en:<http://www.scielo.org.pe/pdf/agro/v7n3/a07v7n3.pdf>
17. Cauper S, Etnobotánica de Plantas Medicinales de las Comunidades Nativas Shipibo - Konibo de Ucayali. [Tesis para optar al Título profesional Ingeniero Agrónomo]. Pucallpa: Universidad Nacional de Ucayali; 2019
18. Fernandes Moreira V; Curcino Vieira I; Braz Filho R. Química y actividad biológica de la tribu Condaminea: una contribución quimiotaxonomica de la familia Rubiaceae. Rev Brasileira de Ciencias de las plantas.2015.[acceso: 14 /02/2021] 6(16) . 2613-2627.Disponible en :
https://www.scirp.org/html/10-2602321_60524.htm

19. Herreras L. Resistencia a antifúngicos de elección de especies de *Candida* aisladas de pacientes con candidiasis vaginal, 2017. [Tesis para optar al Título Profesional de Bióloga en la Especialidad de Microbiología]. Ayacucho: Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga; 2018.

20. Roca M. Actividad bactericida y fungicida de tres tipos de extractos de hoja y corteza de capirona *calycophyllum spruceanum* (Benth) Hook f. ex Schumann. [Tesis para optar al grado de Maestro en Ciencias en Agroecología].Tingo María: Universidad Agraria de la Selva; 2019

21. Gamboa M., Miranda E. Evaluación de la actividad cicatrizante y toxicidad dérmica del gel a base del extracto etanólico de la corteza de *calycophyllum spruceanum* (benth) hook f. ex k. schum “Capirona” en ratas albinas holtzman. [tesis para optar el título profesional de químico Farmacéutico].Lima.Universidad Norbert Wiener;2020.

22. Zevallos R,Tananta G. Actividad cicatrizante del extracto hidroalcohólico de *calycophyllum spruceanum* (capirona de bajío) en ratones albinos 2021. [tesis para optar el título profesional de químico farmacéutico]..Lima.Universidad Maria Auxiliadora ;2021

23. Peixoto H, Roxo M, Koolen H, Da Silva F, Silva E, Santhosh M, et al. *Calycophyllum spruceanum* (Benth.), el árbol de la juventud amazónica prolonga la longevidad y aumenta la resistencia al estrés en *Caenorhabditis elegans*. Moléculas.Rev. Molecule. 2018. [acceso: 23/05/2021]; 23(3): 534. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/molecules23030534>.

24. Cadena Uguña K, Pazan Leon P, Farfan Chacha A.Efecto antifungico de diferentes concentraciones del extracto de *Uncaria tomentosa* sobre *Candida albicans*: Estudio *in vitro*. Rev odon Ecuador.2017. [acceso: 18/10/2021];19(2): 30-39. Disponible en:

<https://revistadigital.uce.edu.ec/index.php/odontologia/article/view/1073/1075>

25. Barros da Silva A, Ferreira R, Freitas R, Lima M, Araùjo F, Ferr eira H, et al. Calycophyllum spruceanum BENTH mejora la inflamación aguda en ratones. Revista de Etnofarmacología. 2018. [acceso: 23/05/2021]; 219: 103-109. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2018.03.023>.

26. Pappas Peter G, Kauffman Ann C, Andes Research D, Cornelliuss Clancy J, Marr Karien A, Ostrosky Zeichner L, et al. Clinical Practice Guideline for the Management of Candidiasis: Update by the Infectious Diseases Society of America. Rev med Clinical Infectious Diseases USA. 2016 [acceso : 16 /02/2021] ; 62(4): 36-45. Disponible en:

<https://academic.oup.com/cid/article/62/4/e1/2462830>

27. Hernández R. Metodología de la investigación. 6ta ed. México d.f.: Editorial mc graw hill; 2014.

28. Guía Técnica para la colecta de plantas medicinales. Perú: 2021 Febrero .

<http://bvs.minsa.gob.pe/local/fi-admin/rm-197-2021-minsa.pdf>

29. Rodés-Reyes S, Peña-Fuentes D, Hermosilla-Espinosa R. Tamizaje fitoquímico de extractos y tinturas al 20 % de la raíz y corteza de *Dichrostachys cinerea* L. (*Marabú*). Rev Cubana Plant Med. 2015. [acceso: 09/04/2021] 20 (2): 156-166. Disponible en:

http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S102847962015000200002

30. Mena Valdés L, Tamargo Santos B, Salas Olivet E, Plaza Paredes E ,Blanco Hernández Y, Otero González A, Sierra González G. Determinación de saponinas y otros metabolitos secundarios en extractos acuosos de *Sapindus saponaria* L. (jaboncillo). Rev Cubana Plant Med. 2015. [acceso: 10/04/2021] 20(1): 106-116. Disponible en:

http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962015000100010

31. Maye B, Miguel G. El antibiograma de discos. Normalización de la Técnica de Kirby-Bauer. *Biomédica*.35(1):103-9;2018

32. Cieza C, Ucancial H. Actividad antibacteriana del extracto alcohólico de hojas de *bidens pilosa* L. (cadillo) sobre bacterias tipificadas. [Tesis para optar al título profesional de Químico Farmacéutico]. Lima: Universidad Maria Auxiliadora; 2020.

33. Varillas A, Ttito D. Actividad diurética del extracto etanólico de las hojas de matico (buddleja globosa) en ratas. [Tesis para optar al Título Profesional de Químico Farmacéutico y Bioquímico]. Lima: Universidad Inca Garcilaso de la Vega; 2018.

34. Rengifo Zevallos D. Estudio fitoquímico cualitativo preliminar y cuantificación de flavonoides y taninos del extracto etanólico de hojas de *Desmodium vargasianum* Schubert . *Rev Soc Quím Perú*. 2018. [acceso: 20 /04/2021]; 84(2) 175-179.Disponible en:
http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1810-634X2018000200002&lng=es&nrm=iso

35. Colina A. Análisis fitoquímico, determinación cualitativa y cuantitativa de flavonoides y taninos, actividad antioxidante, antimicrobiana de las hojas de “*Muehlenbeckia hastulata* (J.E.Sm) I.M. Johnst” de la zona de Yucay (Cusco) , [Tesis para optar al Título Profesional de Químico Farmacéutico y Bioquímico]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2016.

36. Lock O, Investigación fitoquímica. 3ed. Perú: Editorial Pontificia Universidad Católica del Perú. Departamento de Ciencias; 2016.

37. Maye B, Miguel G. El antibiograma de discos. Normalización de la Técnica de Kirby-Bauer.*Rev Biomédica*. 35(1) :103-9 ;2018.

38. Castro Méndez C, García Sánchez E y Martín-Mazuelos E. Actualización de los métodos de estudio de sensibilidad in vitro a los antifúngicos. *Rev Enferm Infecc*

Microbiol Clin Hosp.2019. [acceso: 27/05/2021];37 (1): 32-39.Disponible en:<https://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-pdf-S0213005X19301806>

39. Medrano E J, Medrano A. Actividad antimicrobiana y efecto desinfectante del aceite esencial de *origanum vulgare* L. (orégano) frente a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. [Tesis para optar al Título Profesional de Químico Farmacéutico y Bioquímico]. Lima: Universidad Maria Auxiliadora; 2020.

[.http://www.scielo.org.pe/pdf/rsqp/v83n4/a04v83n4.pdf](http://www.scielo.org.pe/pdf/rsqp/v83n4/a04v83n4.pdf) NGEyqzGs/edit

40. Instituto nacional del Perú. Difusión en discos para la determinación de susceptibilidad antifúngica de hongos levaduriformes *Candida spp*.Lima;2016.

[acceso: 1/06/2021].Disponible en :

41. Castro Méndez C, García Sánchez E y Martín-Mazuelos E. Actualización de los métodos de estudio de sensibilidad in vitro a los antifúngicos. Rev Enferm Infecc Microbiol Clin Hosp.2019. [acceso: 27/05/2021];37 (1): 32-39.Disponible en:<https://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-pdf-S0213005X19301806>

42. Montero Recalde M, Aviles Esquivel D, Pazmiño Miranda P, Erazo Gutierrez V, Vayas Minango L. Evaluación de dos métodos para medir la sensibilidad de inhibición de crecimiento de la cepa certificada de *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus*. Rev Invest Vet . 2018. [acceso: 22/05/2021]; 20(2): 1543-1547. Disponible en:<http://www.scielo.org.pe/pdf/rivep/v29n4/a52v29n4.pdf>

43. Chanco R , Vega J.Susceptibilidad a fluconazol y voriconazol en cepas del género *Candida*, aisladas en secreción vaginal de pacientes en edad reproductiva atendidos en un policlínico categoría I-3, lima. [Tesis para optar al título profesional

en Tecnología Médica en Laboratorio Clínico y Anatomía Patológica]. Lima: Universidad Privada Polbert Wiener; 2020.

44. López-Ávila k, Dzul-Rosado k, Lugo-Caballero C, Arias-León J, Zavala-Castro J. Mecanismos de resistencia antifúngica de los azoles en *Candida albicans*. Rev. Biomédica.2016. [acceso: 22/05/2021]; 27 (3): 127-136. Disponible en : http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-84472016000300127

45. Clemente C, Paucar R. Actividad antimicrobiana del extracto etanólico de las hojas de *Schinus molle* L. (Molle),2017. [Tesis para optar el Título Profesional de: Químico Farmacéutico]; Lima: Universidad Wiener;2017.

46. Vega R. Actividad Antimicrobiana de aceites esenciales obtenidos por dos métodos de extracción diferentes de tres especies vegetales medicinales peruanas frente a streptococcus pneumoniae. [Tesis para optar al Título Profesional de Bióloga]. Lima: Universidad Nacional Agraria la Molina;2019.

47. Morillo Castillo J, Cumanda Balseca M. Eficacia inhibitoria del aceite esencial de *Cymbopogon Citratus* sobre cepas de *Porphyromona Gingivalis*: Estudio in vitro E.Rev Per odontología.2018 [acceso: 22/05/2021]; 20(2): 5-13 .Disponible en:<https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6788001>

48. Rendón Macías M, Villasís Keever M, Miranda Novales M.Estadística descriptiva. Rev Alerg Mex. 2016. [acceso: 22/05/2021]; 63(4): 397-407. Disponible en:<https://revistaalergia.mx/ojs/index.php/ram/article/view/230/363>

49. Baena G. Metodología de la investigación. 3ra. edición. Mex: Grupo Editorial Patria. México. ISBN ebook: 978-607-744-748; 2017.

<https://editorialpatria.com.mx/pdf/files/9786074384093.pdf>

50. Hernández R,Mendoza P. Metodología de la Investigación.Ciudad de México: Editorial Mc GrawHill;(2018).

51. Barrios Osuna I, Anido Escobar V, Morera Pérez M. Declaración de Helsinki: cambios y exégesis. Rev Cub de Salud Pub. 2016.[acceso: 22/05/2021] ;42(1) 132-142.Disponible en:

<http://scielo.sld.cu/pdf/rcsp/v42n1/spu14116.pdf>

52. Saravia T. Nivel de conocimiento y prácticas de bioseguridad en el personal de laboratorio del Hospital María Auxiliadora, San Juan de Miraflores, 2018. [Tesis para optar al grado académico de Maestra en Gestión de los Servicios de la Salud]. Lima: Universidad César Vallejo;2018.

53. Valdiviezo-Campos J, Blanco-Olano C, Olascuaga-Castillo K, Rubio-Guevara S. Investigación y aplicaciones de etnobotánica. Rev Per Uncaria tomentosa (Willd.) DC. (Rubiaceae): Especie nativa del Perú. 2020 .[acceso: 22/07/2021] ; 19 (13) 1-15. Disponible en:

<https://ethnobotanyjournal.org/index.php/era/article/view/1795/951>

54. Cadeña U. Efecto antimicótico del extracto de uncaria tomentosa (uña de gato) contra *Candida albicans* estudio in vitro. [Tesis para optar al Título profesional de Odontólogo] . Quito : Universidad Central del Ecuador; 2017.

ANEXOS

Anexo A. OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES

VARIABLES	Tipo de variable	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	DIMENSIONES	INDICADORES	Nº ITEM	VALOR FINAL	CRITERIOS
<p>VARIABLE INDEPENDIENTE</p> <p>El extracto hidroalcohólico de la corteza de <i>Calycophyllum spruceanum</i> (benth) Hook.f.ex.k Schuman (capirona de altura)</p>	<p>Cuantitativo y Longitudinal</p> <p>Cualitativo y Longitudinal</p>	<p>Se usa alcohol de 70° y vegetales, que pueden actuar como antimicótico de acuerdo al vegetal que se use para su elaboración, del alcohol extrae las propiedades de los vegetales</p>	<p>Extracto hidroalcohólico es la forma práctica de concentrar y obtener los principios activos que sintetizan los vegetales. El extracto hidroalcohólico facilita la extracción de sustancias que ejercen algún tipo de actividad en nuestro organismo.</p>	<p>Tamizaje fitoquímico</p> <p>Diluciones de extracto hidroalcohólico</p>	<p>Presencia de metabolitos secundarios</p>	5	<p>++++ Abundante</p> <p>+++ Moderado</p> <p>++ Leve</p> <p>+ Escaso</p>	<p>Rango de presencia o ausencia</p>
<p>VARIABLE DEPENDIENTES</p> <p>Actividad antibacteriana</p>	<p>Cuantitativo y Longitudinal</p>	<p>Conjunto de compuestos que eliminan o reducen microorganismos causantes de enfermedades fúngicas. Los antimicóticos que se usan en humanos.</p>	<p>La actividad antimicótica Método Kirby Bauer o antibiograma nos ayudará a evaluar la actividad antimicótica del extracto hidroalcohólico de <i>Calycophyllum spruceanum</i> (capirona) frente a la cepa <i>Cándida albicans</i>.</p>	<p>Inhibición del crecimiento antimicótico</p>	<p>Halo de inhibición (mm)</p>	2	<p>Crecimiento Sin crecimiento</p>	<p>Evidencia de inhibición de crecimiento</p>

ANEXO B: INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Concentración :		Volumen : 20µL.				
Microorganismo: <i>Candida albicans</i> - ATCC 2091.						
	Placa 1	Placa 2	Placa 3	Placa 4	Placa 5	Placa 6
Halos Inhibición						
Halos Inhibición						
Halos Inhibición						
Halos Inhibición						
Halos inhibición						
Promedio						

Fuente : Elaboración propia 2021

ANEXO C: CERTIFICADO TAXONÓMICO

"Madre de Dios Capital de la Biodiversidad del Perú"

"Año del Bicentenario del Perú: 200 años de Independencia"

CERTIFICACIÓN DE IDENTIFICACIÓN TAXONÓMICA DE ESPECIMENES VEGETALES

El que suscribe, **Dr. HERNANDO HUGO DUEÑAS LINARES**, Especialista en Identificación Taxonómica de especies de flora silvestre, mediante Resolución Directoral N° 054-2017-SERFOR/DGGSPFFS-DGSPF, con Código de Licencia LC-ES-2017-009; del Servicio Nacional Forestal y de Fauna Silvestre-SERFOR.

CERTIFICA, que los ejemplares (05) presentados por los bachilleres. **LEDDY ARIAS HUESEMBE** y **LEONARDO COLQUE MANYA**, quienes realizan una investigación en la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad María Auxiliadora, para su identificación y/o determinación, para efecto del proyecto de tesis titulado: "**ACTIVIDAD ANTIMICÓTICA IN VITRO DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LA CORTEZA DE *Calycophyllum spruceanum* (Benth) Hook. f. ex. K. Schuman (Capirona de altura) FRENTE A LA CEPA DE *Candida albicans***". Corresponde a la siguiente taxa aceptable oficialmente:

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsysydea

Orden: Rubiales

Familia: Rubiaceae

Género: *Calycophyllum*

Especie: *Calycophyllum spruceanum* (Benth) Hook. f. ex. K. Schuman

Nombre común: Capirona de altura

Activar)

"Madre de Dios Capital de la Biodiversidad del Perú"
"Año del Bicentenario del Perú: 200 años de Independencia"

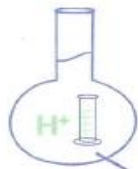
De acuerdo a la descripción de sus características vegetativas y reproductivas, las que están registrada para la Flora de Perú: Departamento de Madre de Dios; en el Catálogo de Angiospermas y Gimnospermas del Perú de Lois Brako and James L. Zarucchi (1993), al APG IV (Angiosperm Phylogenetic Group, 2016) y en el Taxonomic Name Resolution Service v4,1(2021). Se expide el presente certificado a solicitud de los interesados para los fines que considere conveniente. Se anexa al presente Certificado de Identificación los datos correspondientes a la especie en formato Excel.

Puerto Maldonado, 10 de Junio de 2021.



Dr. Hugo Dueñas Linares
ESPECIALISTA EN IDENTIFICACIÓN
TAXONÓMICA DE FLORA SILVESTRE
Código LIC-ES-2017-009

ANEXO D: CERTIFICADO DE LA MARCHA FITOQUÍMICA DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO



MC QUIMICALAB

De: Ing. Gury Manuel Cumpa Gutierrez
LABORATORIO DE CIENCIAS NATURALES
AGUAS, SUELOS, MINERALES Y MEDIO AMBIENTE

RUC N° 10465897711 - COVIDUC A4 - SAN SEBASTIÁN CEL: 974 673993 - 946 688776

INFORME N°LQ 0186-21

ANÁLISIS FITOQUÍMICO DE CORTEZA

SOLICITA : Bach. Leonardo Colque Manyá.
Bach. Leddy Arias Huesembe

TESIS : ACTIVIDAD ANTIMICÓTICA IN VITRO DEL EXTRACTO
HIDROALCOHOLICO DE LA CORTEZA DE "*Calycophyllum spruceanum* (benth.) hook. f. ex k
Schuman." (capirona de altura) FRENTE A LA CEPA DE *Candida albicans* ATCC 2091

MUESTRA : Extracto hidroalcohólico de la corteza de *Calycophyllum Spruceanum*.

DISTRITO : Tambopata.

PROVINCIA : Tambopata.

DEPARTAMENTO: Madre de Dios.

FECHA DE MUESTREO: 04/05/21

FECHA DE INFORME : 26/06/21

RESULTADOS

DETERMINACIONES (METABOLITOS)	RESULTADOS
Taninos (reacción de la gelatina)	Positivo Precipitado
OH Fenólicos (cloruro férrico)	Positivo tonalidad verde grisácea
Lípidos	Positivo
Saponinas (Poder tensoactivo)	Positivo ++
Saponinas (Poder Emulsificante)	Positivo +
Flavonoides (Shinoda)	Flavonoides y Flavonoles +++
Flavonoides (AlCl ₃)	Positivo Flavonas +
Flavonoides (Acetato/Plomo)	Negativo Flavonoides
Alcaloides (Dragendorff)	Positivo +
Alcaloides (Otto)	Positivo Alcaloides Indólicos ++
Antraquinonas (Borntrager)	Positivo +++
Compuestos Fenólicos	Negativo Flavonoides Benzopiránicos

Nota: (+++) = Abundante (++) = Mediana (+) = Poco o mínimo

METODO DE ANALISIS: Caracterización Fitoquímica de *Prosopis Flexuosa* - Revista Ciencias Veterinarias Vol.15 N°1 , 2013 (ISSN 1515-1883)

NOTA: Los resultados son válidos únicamente para la muestra analizada.

MC QUIMICALAB
 Ing. Gury Manuel Cumpa Gutierrez
 ADMINISTRACION
 CIP. 238238

MARIO CUMPA CAYURI
 INGENIERO QUIMICO
 REG. COLEGIO DE INGENIEROS N° 16198

Activar \
Ir a Configi

ANEXO E: CERTIFICADO DE ANÁLISIS DE LA CEPA *CANDIDA ALBICANS* ATCC 2091



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

Specifications Microorganism Name: <i>Candida albicans</i> Catalog Number: 0896 Lot Number: 896-96** Reference Number: ATCC® 2091™* Purity: Pure Passage from Reference: 3	Expiration Date: 2021/7/31 Release Information: Quality Control Technologist: Tracy A Blenker Release Date: 2019/9/13
---	--

Performance	
Macroscopic Features: Medium to large, circular to slightly irregular, convex, entire to filamentous edge, cream, fuzzy and adheres to agar.	Medium: Nutrient
Microscopic Features: Gram positive, ovoid, budding yeast cells; pseudohyphae may be present.	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) Chlamyospore production: positive <div style="text-align: center;"> Amanda Kuperus Quality Control Manager AUTHORIZED SIGNATURE </div>
---	---

**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.

**ANEXO F. CONSTANCIA DE PARTICIPACIÓN EN LA ELABORACIÓN DEL
EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE CORTEZA DE CALYCOPHYLLUM
SPRUCEANUM**

MC QUIMICALAB

De: Ing. Gury Manuel Cumpa Gutierrez
LABORATORIO DE CIENCIAS NATURALES
AGUAS, SUELOS, MINERALES Y MEDIO AMBIENTE
RUC N° 10465897711 - COVIDUC A4 - SAN SEBASTIÁN CEL: 974 673993 - 946 688776

CONSTANCIA DE TRABAJO

El que suscribe, Ing. Gury Manuel Cumpa Gutiérrez, administrador del Laboratorio MC QUIMICALAB hace constar que:

Los bachilleres de la ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUIMICA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD DE LA UNIVERSIDAD MARIA AUXILIADORA, Leonardo Colque Many y Leddy Arias Huesembe, han realizado su trabajo de tesis titulado ACTIVIDAD ANTIMICÓTICA IN VITRO DEL EXTRACTO HIDROALCOHOLICO DE LA CORTEZA DE "*Calycophyllum spruceanum* (benth.) hook. f. ex k Schuman." (capirone de altura) FRENTE A LA CEPA DE *Candida albicans* ATCC 2091, durante los meses de Mayo y Junio del año 2021.

El trabajo de laboratorio realizado consistió en la limpieza, pesado, triturado, preparación de la solución hidroalcohólica, macerado, filtrado, separación y finalmente la obtención del extracto etanólico a partir de la corteza de *CALYCOPHYLLUM SPRUCEANUM* (BENTH.) *HOOK. F. EX K SCHUMAN* como también la preparación y análisis fitoquímico del extracto.

Se expide la presente constancia a petición verbal del interesado, para los fines convenientes.

Cusco, 26 de Junio del 2021

 **MC QUIMICALAB**
M. Cumpa
Ing. Gury Manuel Cumpa Gutierrez
ADMINISTRACION
CIP. 258558

ANEXO G. CONSTANCIA DE PRÁCTICAS DE PARTICIPACIÓN EN EL LABORATORIO MICROBIOLÓGICO..



LAASA LAB

SERVICIOS EN ANÁLISIS DE AGUAS, ALIMENTOS Y MONITOREO AMBIENTAL

RUC: 20607268526

CONSTANCIA DE PRACTICAS

La que suscribe, Blga. María del Carmen Yáñez Mujica, Gerente del Laboratorio LAASA Lab. EIRL., hace constar que:

Los Bachilleres de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, Facultad De Ciencias de la Salud de la Universidad María Auxiliadora, COLQUE MANYA, **LEONARDO y ARIAS HUESEMBE. LEDDY**, realizaron Ensayos Microbiológicos de Actividad Antimicótica in vitro del Extracto Hidroalcohólico de la corteza de **Calycophyllum spruceanum (benth) hook.f.ex k Schuman (capirona de altura)** frente a cepa de *Candida albicans* ATCC 2091, en nuestras instalaciones con el Método de Difusión en Agar según Kirby Bauer y Col Modificado, desde el 14 de junio al 30 de junio del 2021.

Se expide la presente constancia a petición de los interesados, para los fines correspondientes.

Cusco, 30 junio del 2021.


Blga. María del Carmen Yáñez Mujica
C.B.P. 8293
GERENTE
LAASA LAB
SERVICIOS EN ANÁLISIS DE AGUAS, ALIMENTOS
Y MONITOREO AMBIENTAL.

ANEXO H. EVIDENCIAS FOTOGRÁFICAS DEL TRABAJO DE CAMPO



Figura 2: Resultados de la Marcha Fitoquímica



Figura 3: Reactivos para el tamizaje



Figura 4: Preparación del medio de cultivo





FIGURA 6: Autoclavado de los materiales



FIGURA 7: Preparación del medio de cultivo



FIGURA 8: Rotulados de placas



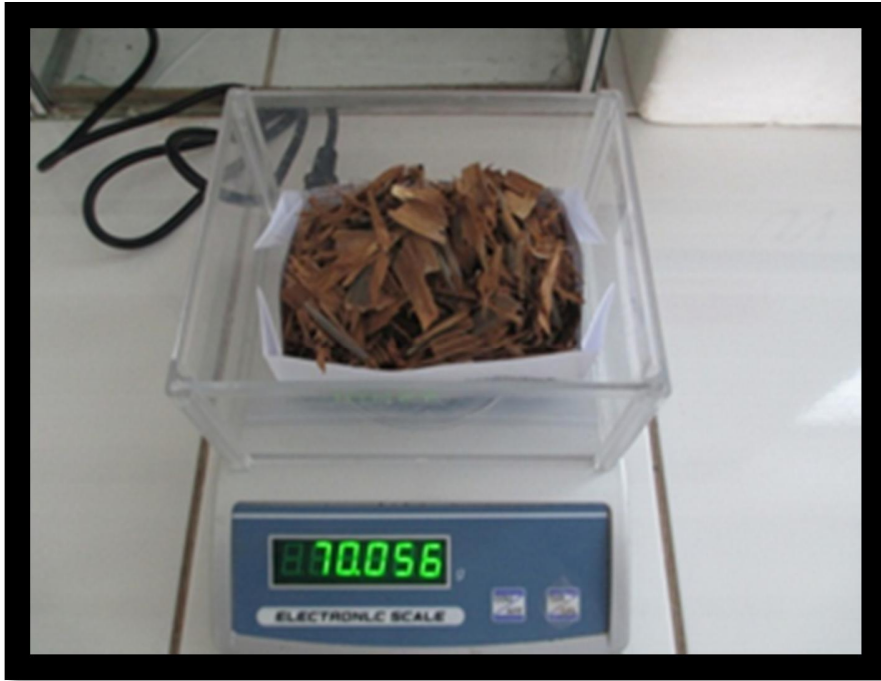
Figura 9: Realizando la prueba de solubilidad



Figura 10: Medición de halos de inhibición



Figura11: Muestra recolectada y seca



12. Pesando la muestra
Figura 13: Obtención del extracto líquido

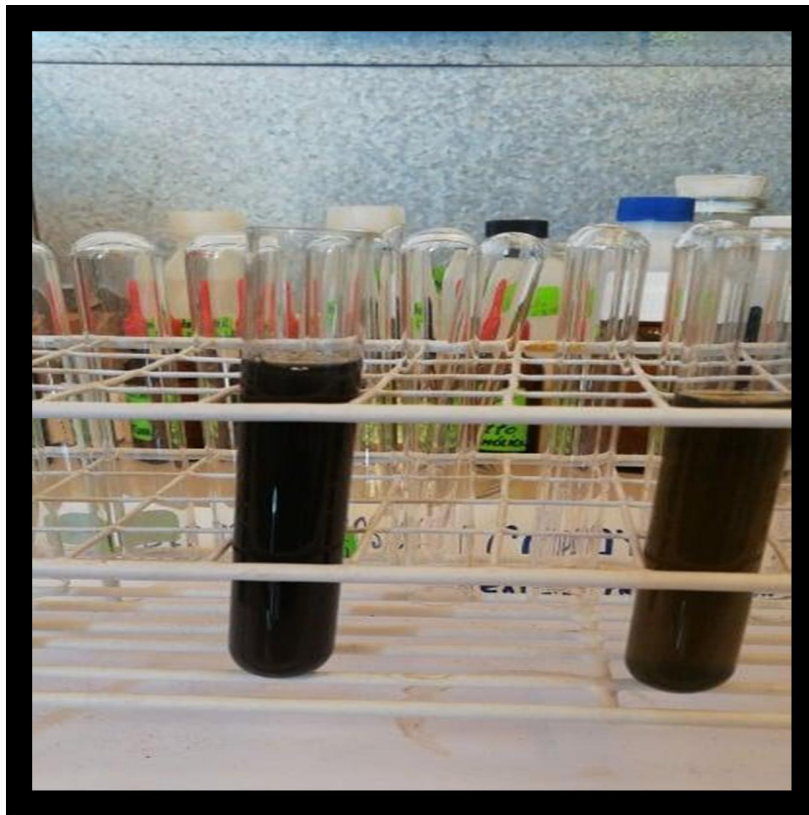




FIGURA 14: En el laboratorio QUIMICA LAB



FIGURA 15: En el laboratorio QUIMICA LAB