



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

**EFFECTO ANTIFÚNGICO *in vitro* DEL EXTRACTO
HIDROALCOHÓLICO DE LA CORTEZA DE *Calycophyllum
spruceanum* Benth (capirona) FRENTE A *Candida albicans*
ATCC 10231**

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

AUTORES

Bach. LLAMO PAQUIRACHIN, YENIFER YOANA

<https://orcid.org/0000-0002-4895-225X>

Bach. DEL CARPIO PACO, PETER JEAN CLAUDE

<https://orcid.org/0000-0001-5662-5059>

ASESOR

Mg. FLORES LÓPEZ, OSCAR

<https://orcid.org/0000-0001-9091-2537>

LIMA – PERÚ

2022

DEDICATORIA

A nuestros padres por habernos forjado como las personas que somos actualmente, la mayoría de nuestros logros se los debemos a ustedes.

A nuestros familiares, seres queridos y a todas las personas que estuvieron a nuestro lado y aportaron para poder estar donde hoy estamos.

Los autores

AGRADECIMIENTO

Familia, amigos y personas especiales en nuestra vida. Este nuevo logro es en gran parte gracias a ustedes; hemos logrado concluir con éxito este proyecto que en un principio podría parecer una tarea interminable, pero que con esfuerzo y dedicación se logró.

Y a nuestro Dios padre por permitirnos haber llegado hasta este momento de nuestras vidas.

Muchas gracias a aquellos seres queridos que siempre aguardo en mi alma. Quisiéramos dedicar ésta tesis a ustedes.

Los autores

ÍNDICE GENERAL

	Páginas
ÍNDICE GENERAL	4
RESUMEN	8
ABSTRACT	9
I.	10II.
152.1. Enfoque y diseño de la investigación:	16
2.2. Población, muestra y muestreo:	16
2.3. Variables de la investigación:	17
2.4. Técnicas de instrumentos y de recolección de datos:	17
2.5. Plan metodológico de la recolección de datos:	17
III.	19IV.
224.1. Discusión	23
4.2. Conclusiones	24
4.3. Recomendaciones	25
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	26

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Análisis estadístico descriptivo para los datos recolectados de los halos de inhibición promedio	29
<i>Tabla 2. Análisis comparativo de las medias de cada grupo mediante ANOVA</i>	21
Tabla 3. Análisis de las medias de los halos de inhibición mediante la prueba de Tukey por sub grupos homogéneos	21
Tabla 4. Sensibilidad antibacteriana según la escala de Duraffourd	22
Tabla 5. <i>Determinación de la distribución normal de los datos recolectados</i>	35
Tabla 6. Prueba de homogeneidad de varianzas (Levene)	36

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Recolección de la muestra	40
Figura 2. Aplicando criterios de selección en la muestra	41
Figura 3. Lavado y secado de la muestra	41
Figura 4. Pulverizado de la muestra	42
Figura 5. Procedimiento de maceración	43
Figura 6. Filtrado del macerado obtenido	44
Figura 7. Preparación de los extractos de <i>Calycophyllum spruceanum</i> Benth (capirona)	45
Figura 8. Activación de la cepa de <i>Candida albicans</i> ATCC ATCC 10231	46
Figura 9. Preparación del inóculo - Escala de McFarland	47
Figura 10. Sembrado del inóculo	48
Figura 11. Acondicionamiento de los pocitos en cultivos en agar	49
Figura 12. Aplicación de los extractos	49
Figura 13. Formación de los halos de inhibición	51
Figura: 14. Medición de los halos de inhibición	51

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo A. Instrumentos de recolección de datos	30
Anexo B. Matriz de consistencia	31
Anexo C. Operacionalización de las variables	33
Anexo D. Análisis estadístico paramétrico de los datos recolectados	34
Anexo E. Certificado de <i>Candida albicans</i> ATCC 10231	37
Anexo F. Identificación taxonómica de <i>Calycophyllum spruceanum</i> Benth (capirona)	39
Anexo G. Evidencias de la parte experimental de la investigación	40

RESUMEN

Objetivo: Demostrar el efecto antifúngico in vitro del extracto hidroalcohólico de la corteza de *Calycophyllum spruceanum* Benth (capirona) frente a *Cándida albicans* ATCC 10231.

Material y Método: La investigación es de tipo cuantitativo, de tipo prospectivo, transversal con diseño experimental, la población de estudio estuvo conformada por *Calycophyllum spruceanum* Benth (capirona) obtenida del distrito de Tarapoto, provincia y departamento de San Martín, ubicado a una altitud de 400,7 m.s.n.m.; se tomó una muestra de 2 kilos de corteza de la muestra vegetal; el extracto se preparó a las concentraciones de 50, 75 y 100% mediante maceración en frío, para la determinación del efecto antifúngico frente a *Candida albicans* ATCC 10231 se empleó la técnica de difusión en pozo.

Resultados: Los resultados encontrados con respecto al tamaño del halo de inhibición fueron de $16,47 \pm 0,44$ mm IC: 16,22 -16,71 para el extracto de capirona al 100%; de $11,05 \pm 0,25$ mm IC: 10,91 -11,19 para el extracto de capirona al 75%; de $9,11 \pm 0,43$ mm IC: 5,75 -6,20 para el extracto de capirona al 50%; los grupos control obtuvieron halos de $5,98 \pm 0,41$ mm IC: 5,75 - 6,20 para el control negativo y para el control positivo fue de $26,66 \pm 0,40$ mm IC: 26,44 - 26,88. Según la escala de Durafourd *Cándida albicans* ATCC 10231 es Sensible a los extractos de capirona al 50% y 75%; es muy sensible al extracto de capirona al 100%; es altamente sensible a la nistatina y presenta sensibilidad nula al control negativo.

Conclusiones: El extracto hidroalcohólico de la corteza de *Calycophyllum spruceanum* Benth (capirona) presenta efecto antifúngico in vitro frente a *Cándida albicans* ATCC 10231 .

Palabras clave: *Calycophyllum spruceanum* Benth; capirona; *Cándida albicans*; extracto; corteza.

ABSTRACT

Objective: To demonstrate the in vitro antifungal effect of the hydroalcoholic extract of the bark of *Calycophyllum spruceanum* Benth (capirona) against *Candida albicans* ATCC 10231.

Material and Method: The research is quantitative, prospective, cross-sectional with an experimental design, the study population was made up of *Calycophyllum spruceanum* Benth (capirona) obtained from the district of Tarapoto, province and department of San Martín, located at an altitude 400.7 meters above sea level; a sample of 2 kilos of bark was taken from the vegetable sample; the extract was prepared at concentrations of 50, 75 and 100% by cold maceration, to determine the antifungal effect against *Candida albicans*, the well diffusion technique was used.

Results: The results found regarding the size of the inhibition halo were 16.47 + 0.44mm CI: 16.22 -16.71 for the 100% capirona extract; 11.05 + 0.25mm CI: 10.91 - 11.19 for capirone extract at 75%; 9.11 + 0.43mm CI: 5.75 -6.20 for capirone extract at 50%; the control groups obtained halos of 5.98 + 0.41mm CI: 5.75 - 6.20 for the negative control and for the positive control it was 26.66 + 0.40mm CI: 26.44 - 26.88. According to the Durafourd scale, *Candida albicans* ATCC 10231 is sensitive to capirona extracts at 50% and 75%; it is very sensitive to 100% capirone extract; it is highly sensitive to nystatin and has no sensitivity to the negative control.

Conclusions: The hydroalcoholic extract of the bark of *Calycophyllum spruceanum* Benth (capirone) has an in vitro antifungal effect against *Candida albicans* ATCC 10231.

Keywords: *Calycophyllum spruceanum* Benth; capirona; *Candida albicans*; extract; Cortex.

I. INTRODUCCIÓN

En la actualidad existe una problemática a nivel mundial, pues nos referimos a la presencia de una resistencia frente a antifúngicos específicamente frente a *Cándida albicans* la cual siendo una célula eucariota es capaz de mutar provocando así la ineficacia a algunos antifúngicos¹. *Candida albicans* es un dermatofito frecuente de nuestra flora cutánea, afectando órganos internos como la boca y vagina, actúa como hongo oportunista, manifestándose cuando el sistema inmunitario está disminuido². Tal dermatofito presenta diferentes factores predisponentes, los mismos que favorecen a su desarrollo, así como su prevalencia en el huésped, *C. albicans* es la responsable de una de las causas principales de infecciones tanto cutáneas o superficiales, así como infecciones sistémicas, llegando ser calificadas como potencialmente mortales. Se dice que tiene una gran incidencia en cuanto a mortalidad según estudios realizados la tasa de mortalidad se encuentra entre 30% a 50 % según el estado en que se encuentre la persona siendo mucho más mortales aquellos pacientes con presencia de VIH o se encuentren inmunodeprimidos³.

C. albicans se encuentra dispersa en todo el mundo, estudios realizados en EE.UU presento resultados afirmando que es una de las causas más comunes de IS adquiridas a nivel nosocomial llegando a presentar tasas brutas de mortalidad de hasta 50%⁴. “En Brasil, un estudio de vigilancia en 16 hospitales (2007-2010), se encontró *Candida* en 249 casos de cada 1000 admisiones hospitalarias, con una mortalidad bruta del 72 % (53 % para pacientes que no estaban en la UCI y 85 % para pacientes que estaban en UCI)”⁵.

En el Perú existen algunos estudios acerca de *C. albicans* y su prevalencia, uno de ellos se realizó en el hospital nacional de alta

complejidad de Lima (2004-2006) afirmando en un estudio mediante hemocultivo que un 11,6% de pacientes en UCI presentan Cándida. Existe otro estudio que se realizó en tres hospitales de Lima y Callao (2013 al 2015) donde se reportaron 158 aislamientos y una recurrencia de candidiasis sistémica que fluctúa entre 1 y 2,6 casos por cada 1000 ingresos⁵.

Asimismo, en Lambayeque algunos estudios han reportado la presencia de infecciones por *Candida albicans* en varias poblaciones, por ejemplo un 15% de infecciones en trabajadoras sexuales (según el MINSA 2001, Programa de control de enfermedades de transmisión sexual y SIDA – PROCETSS), un 6.52% en mujeres que pertenecen al centro penitenciario de Picsi, un 48.14% en pobladoras gestantes de la ciudad de Chiclayo, 2% en trabajadoras sexuales de José Olaya - Chiclayo (DISA Lambayeque, 2000) y un 38.10% en mujeres del grupo etario fértil⁶.

En los últimos tiempos se ha visto un incremento descontrolado en cuanto al uso de antifúngicos esto generando el uso irresponsable de diversos fármacos que muchas veces causan daño en el organismo, o su valor es elevado como consecuencia de la baja economía que existen en muchas zonas del país. Por ende, es necesario se busquen y estudien nuevas alternativas naturales al alcance de todos nosotros. El desarrollo del proyecto de investigación permitirá contribuir con el conocimiento y aplicación de la especie *Callycophyllum spruceanum* Benth (capirona) y su propiedad antimicótica frente a un dermatofito muy conocido como *C. albicans*.

Callycophyllum spruceanum Benth (capirona), pertenece a la familia de las Rubiáceas, se distribuye por zonas tropicales, templadas. Los marcadores quimiotaxonómicos de la familia Rubiaceae son: alcaloides indólicos, iridoides y antraquinonas. Los alcaloides indólicos han sido los metabolitos secundarios más estudiados con el fin de comprobar la quimiotaxonomía de la familia. En *Callycophyllum spruceanum* Benth (capirona) Se identificaron cinco metabolitos secundarios en el extracto, a

saber, gardenósido, 5-hidroxi-6-metoxicumarina-7-glucósido⁷.

Por otro lado, *Candida albicans* es un hongo que se encuentra en la microflora natural y necesita de factores dependientes del huésped para poder desencadenar su patogenicidad de dicho dermatofito. Las especies de *Candida* se encuentran entre las causas más comunes de enfermedad micótica invasiva, y *Candida albicans* reina como la principal causa de candidiasis invasiva. Dado que los hongos son eucariotas como su huésped humano, la cantidad de objetivos moleculares únicos que pueden explotarse para el desarrollo de antifúngicos sigue siendo limitada⁸.

Su patogenicidad se debe a la presencia de glicoproteínas las que son capaces de adherirse a la superficie de las células epiteliales para posteriormente formar una especie de tubos germinales los que van a penetrar las células y formar una serie de enzimas las que van a contribuir con la fijación de dicho dermatofito⁹

Entre los antecedentes internacionales tenemos a **Dookie R. et al (2021)**, quienes definieron por objetivo realizar la caracterización fitoquímica, así como la evaluación antimicrobiana de los extractos metanólicos y etanólicos a partir de la corteza de *Calycophyllum spruceanum*. Mediante el uso del equipo cromatógrafo de gases se identificó compuestos como iridoides, terpenos, alcaloides y fenoides. El extracto metanólico presentó mayor potencial antimicrobiano contra las cepas *A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *S. enteritidis* y *S. aureus* en concentraciones a partir de 500µ/ml¹⁰.

Souza A. et al (2018), publicaron su investigación, en la cual realizaron un cribado fitoquímico y evaluaron la acción antioxidante de las especies *Lafoensia pacari* y *Calycophyllum spruceanum* formuladas en extractos con etanol y extractos con agua. Los compuestos fitoquímicos encontrados de la especie *C. spruceanum* son ácidos orgánicos,

glucósidos cardioactivos, saponinas y alcaloides. La acción antioxidante fue mayor para el extracto de la especie *Lafoensia pacari* muy similar a la vitamina C y el extracto de *C. spruceanum* no presentó una buena acción antioxidante¹¹.

Magrini V, Fernández A, Fraige K, Siqueira D, Bolzani V (2016), en su estudio cuyo objetivo fue realizar el estudio fitoquímico de extractos de hojas, ramas y corteza de tallo de *Calycophyllum spruceanum* Benth (Rubiaceae), se obtuvieron extractos con solventes de diferente polaridad (hexánico, acetato de etilo, metanólico, hidroalcohólico (70:30EtOH:H₂O v/v) y acuoso (por extracción por decocción) y fueron analizados, donde se logró identificar compuestos fenólicos que pueden actuar como antioxidantes y antifúngicos potencialmente activos¹².

Con respecto a los antecedentes nacionales del estudio, tenemos la publicación de los autores **Colque, L y Arias L. (2021)**. Elaboraron su estudio con el propósito de evaluar la sensibilidad in vitro de *Candida albicans* cuando es expuesta en un extracto hidroalcohólico de la corteza de la especie *Calycophyllum spruceanum* (Benth). A través de la técnica de difusión en disco el extracto hidroalcohólico de *C. spruceanum* formó un halo de 16.6mm al 50%, de 13.4mm al 28% y 10.6mm al 14% contra *Candida albicans* in vitro, comprobando que si tiene actividad contra dicho hongo siendo el efecto mayor en la concentración del 50%¹³.

Gamboa M. y Miranda E. (2020), evaluó la actividad cicatrizante, análisis fitoquímico y su toxicidad en la piel (dermis) de la planta *Calycophyllum spruceanum* (Benth) formulados en extracto etanólico a partir de su corteza en ratas. Se prepararon tres geles con la especie vegetal en concentraciones de 1%, 2% y 4%, siendo más eficaz en la concentración del 1% con una eficacia de cicatrización del 90%, además, ninguna rata presento toxicidad en la piel al administrarlo tópicamente. Los metabolitos encontrados azúcares reductores, flavonoides, taninos y compuestos fenólicos¹⁴.

Roca M. (2019) cuyo objetivo fue determinar la actividad bactericida y fungicida de los extractos acuosos, etanólicos y metanólicos de las hojas y corteza de capirona (*Calycophyllum spruceanum* Benth). Los resultados mostraron que los extractos de corteza tuvieron mayor efecto que los de las hojas. Los extractos etanolicos de corteza de 50 y 100 mg/mL presentaron mayor efecto antibacteriano con excepción de los extractos con metanol que si inhibieron a *C. albicans* a partir de 250 mg/mL. Los extractos metanólicos de hoja y corteza presentaron poca actividad antifúngica¹⁵.

El objetivo general del presente estudio es demostrar el efecto antifúngico in vitro del extracto hidroalcoholico de la corteza de *Calycophyllum spruceanum* Benth (capirona) frente a *Cándida albicans* ATCC 10231;

Así mismo, la hipótesis general del estudio el extracto hidroalcoholico de la corteza de *Calycophyllum spruceanum* Benth (capirona) presenta efecto antifúngico in vitro del frente a *Cándida albicans*.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Enfoque y diseño de la investigación:

El enfoque de la investigación es de tipo cuantitativo, debido a que las variables del estudio son numéricas y fueron analizadas mediante análisis estadístico¹⁶.

El diseño corresponde al experimental porque existe una influencia y manipulación con respecto a las variables que presentan los investigadores¹⁷.

El tipo de estudio es prospectivo, transversal, la recolección de los datos se realiza en un tiempo futuro; así mismo, el análisis de estos se efectuó en un determinado momento¹⁸.

2.2. Población, muestra y muestreo:

Población vegetal:

La población estuvo representada por 8 kilogramos de *Calycophyllum spruceanum* Benth (capirona) del distrito de Tarapoto, provincia y departamento de San Martín, ubicado a una altitud de 404,5 m.s.n.m.

Muestra vegetal:

La muestra empleada fue de 2 kilogramos de corteza del árbol *Calycophyllum spruceanum* Benth (capirona)¹⁹.

El tipo de muestreo empleado en la recolección de los datos fue no probabilístico por conveniencia²⁰.

Población biológica:

Candida albicans ATCC 10231

Muestra biológica:

15 placas con cultivos de *Candida albicans* ATCC 10231

2.3. Variables de la investigación:

Variable independiente: Extracto hidroalcohólico de *Callycophyllum spruceanum* Benth (capirona)

- **Definición conceptual**

Solución acuosa obtenida mediante maceración con etanol de 70°C de las cortezas de *Callycophyllum spruceanum* Benth (capirona).

Variable dependiente: Efecto antifúngico frente a *Candida albicans* ATCC 10231

- **Definición conceptual**

Inhibición en el crecimiento de cepas de *Candida albicans* ATCC 10231

2.4. Técnicas de instrumentos y de recolección de datos:

Maceración: Técnica que permitió por medio del contacto con un solvente obtener los principios contenidos en la corteza de la planta²¹.

Difusión en pozo: Permitted determinar por medio de la medida de los halos producidos por los extractos hidroalcohólicos de *Callycophyllum spruceanum* que fueron colocados en pocitos en la placa con cultivo del microorganismo²².

2.5. Plan metodológico de la recolección de datos:

2.5.1. Recolección y preparación de la corteza de *Callycophyllum spruceanum* Benth (capirona):

- Se recolectó de la muestra 2 kg de corteza de *Callycophyllum spruceanum* Benth (capirona), del departamento de San Martín, provincia y distrito de Tarapoto. La corteza obtenida se encontró en óptimas condiciones verificando su buen estado para mejores resultados.
- Luego se procedió a lavar la corteza con agua estéril.
- A continuación, se dejó secar la corteza a temperatura ambiente por 3 días en papel kraft cuidando de no contaminar la muestra con polvo o cualquier otro tipo de sustancia.

- Luego se trozó la corteza en porciones más pequeñas para luego pulverizarla en un molino de cuchillas y luego se colocó en un frasco de boca ancha y color ámbar.

2.5.2. Obtención del extracto hidroalcohólico:

- Se pesaron 500 g de la corteza pulverizada de *Calycophyllum spruceanum Benth (capirona)*, la misma que se colocó en el frasco ámbar de 4 Litros de capacidad y se agregó 1 litro de etanol de 70°, se dejó macerar por 10 días y se agitó por 4 minutos dos veces al día.

2.5.3. Activación y sembrado de la cepa:

- La cepa de *Candida albicans* ATCC 10231 fue reactivada en caldo dextrosa Sabouraud. Los cultivos de *Candida albicans* ATCC 10231 se incubaron a 37°C en un lapso de 24 a 48 horas.
- Una vez obtenido el cultivo se procedió a diluir según la escala de MacFarland 0.5.
- Con las placas ya preparadas con agar dextrosa Sabouraud y con la ayuda de un asa bacteriológica estéril se procedió hacer la siembra de la cepa y llevar a incubación a 37°C por 24 horas²³.

2.5.4. Evaluación de la actividad antimicótica y medición de los halos:

- En una placa se prepararon 3 pocitos para las concentraciones de 50%, 75 % y 100% de los extractos de la planta.
- En otra placa se prepararon dos pocitos para el control positivo (nistatina) y control negativo (etanol 70°)
- Se realizaron 15 repeticiones por placa y se llevaron a incubación por 24 horas a 37°C.

- Luego se retiraron las placas de la incubadora y se procedió a leer los halos de inhibición formados con un vernier digital, para continuar con el registro los datos en la ficha de recolección.

2.6. Procesamiento del análisis estadístico:

Los datos recolectados fueron registrados en una base de datos en Excel y luego importados al programa estadístico SPSS versión 26 para obtener la estadística descriptiva e inferencial de los datos mediante las pruebas de normalidad, homogeneidad de varianzas, ANOVA y Tukey, con un nivel de significancia de 0.5%²⁴.

2.7. Aspectos éticos:

Dentro de los principios éticos se considerará el principio de no maleficencia, por lo tanto, se mantuvieron las medidas de bioseguridad necesarias en los laboratorios de ensayo, manejo de protocolos para prevención del COVID-19 y manejo de residuos biocontaminados, según los estándares MINSA^{25,26}.

III. RESULTADOS

Tabla 1. Análisis estadístico descriptivo para los datos recolectados de los halos de inhibición promedio

Diámetro del halo de inhibición	N	Media	Desv. Desviación	Desv. Error	95% del intervalo de confianza para la media			
					Límite inferior	Límite superior	Mínimo	Máximo
Ext. Alc. Capirona - 100%	1 5	16,47	0,44	0,11	16,22	16,71	15,78	17,29
Ext. Alc. Capirona - 75%	1 5	11,05	0,25	0,07	10,91	11,19	10,63	11,58
Ext. Alc. Capirona - 50%	1 5	9,11	0,43	0,11	8,87	9,35	8,42	9,98
Control Negativo (etanol)	1 5	5,98	0,41	0,11	5,75	6,20	5,32	6,57
Control Positivo (nistatina)	1 5	26,66	0,40	0,10	26,44	26,88	25,96	27,22
Total	7 5	13,85	7,31	0,84	12,17	15,54	5,32	27,22

Fuente: SPSS ver. 26

La tabla 1 muestra el análisis estadístico descriptivo realizado a los datos recolectados con respecto a los diámetros de los halos de inhibición obtenidos para cada grupo de datos, con respecto a los grupos experimentales se obtuvieron halos de inhibición de $16,47 \pm 0,44$ mm IC: 16,22 -16,71 para el extracto de capirona al 100%; de $11,05 \pm 0,25$ mm IC: 10,91 -11,19 para el extracto de capirona al 75%; de $9,11 \pm 0,43$ mm IC: 8,87 -9,35 para el extracto de capirona al 50%; los grupos control obtuvieron halos de $5,98 \pm 0,41$ mm IC: 5,75 - 6,20 para el control negativo y para el control positivo fue de $26,66 \pm 0,40$ mm IC: 26,44 - 26,88.

Tabla 2. Análisis comparativo de las medias de cada grupo mediante ANOVA

Diámetro del halo de inhibición					
	Suma de cuadrados	Df	Media al cuadrado	F	p-valor.
Entre grupos	3948,129	4	987,032	6426,126	0,000
Dentro de grupos	10,752	70	0,154		
Total	3958,880	74			

Fuente: SPSS ver. 26

Interpretación:

La tabla 2, muestra el análisis comparativo de los valores promedio del diámetro de los halos de inhibición mediante el Análisis de Varianza (ANOVA), la prueba aplicada obtuvo un valor p-valor= 0,00; siendo este valor inferior al nivel de significancia de 0,05; se demuestra que los grupos de datos analizados presentan diferentes significativas en las medias de los halos de inhibición en al menos unos de los grupos estudiados.

Tabla 3. Análisis de las medias de los halos de inhibición mediante la prueba de Tukey por sub grupos homogéneos

HSD Tukey ^a						
Grupos de trabajo	N	Subconjunto para alfa = 0.05				
		1	2	3	4	5
Control Negativo (etanol)	15	5,97				
Ext. Alc. Capirona - 50%	15		9,11			
Ext. Alc. Capirona - 75%	15			11,05		
Ext. Alc. Capirona - 100%	15				16,46	
Control Positivo (nistatina)	15					26,65
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 15,000.

Fuente: SPSS ver. 26

La tabla 3, permite determinar el efecto antifúngico en función de los halos de inhibición del extracto hidroalcohólico de la corteza de *Calycophyllum spruceanum* Benth (capirona) mediante el análisis de la prueba de Tukey por sub grupos homogéneos. Se observa que todos los grupos de tratamientos presentan diferencias significativas con respecto a sus medias, siendo el control negativo el grupo de comparación sin efecto antifúngico con halo de inhibición promedio de 5,97mm, los grupos experimentales presentaron efecto antifúngico creciente con halos de inhibición promedio de 9,11mm; 11,05mm; 16,46mm para los extractos al 50%, 75% y 100%; el control positivo (nistatina) obtuvo un halo de inhibición de 26,65mm.

Tabla 4. Sensibilidad antibacteriana según la escala de Duraffourd

Tratamiento	Sensibilidad nula ≤ 8 mm	Sensible 8–14 mm	Muy sensible 14-20 mm	Altamente sensible > 20 mm
Control Negativo (etanol)	5,97			
Ext. Alc. Capirona - 50%		9,11		
Ext. Alc. Capirona - 75%		11,05		
Ext. Alc. Capirona - 100%			16,46	
Control Positivo (nistatina)				26,65

En la tabla 4, se aprecia la sensibilidad de *Candida albicans* ATCC 10231 frente a los grupos de tratamiento en función del tamaño del halo de inhibición tomando como referencia la escala de Duraffourd; en tal sentido, se observa que *Candida albicans* ATCC 10231 presenta **sensibilidad nula** para el control negativo (etanol), es **sensible** al extracto alcohólico de capirona al 50% y 75%, es **muy sensible** al extracto alcohólico de capirona al 100% y altamente sensible al control positivo de nistatina.

IV. DISCUSIÓN

4.1. Discusión

Las infecciones micóticas se muestran como un tipo de enfermedad que genera altos índices de morbilidad especialmente por la especie *Cándida albicans*, la que presentan de igual manera altos índices de resistencia a los antifúngicos, en tal sentido, la presente investigación permite demostrar el efecto antifúngico del extracto hidroalcohólico de la corteza de *Calycophyllum spruceanum* Benth (capirona) frente a *Cándida albicans* ATCC 10231, los resultados se presentan a continuación:

Los halos de inhibición obtenidos por los extractos hidroalcohólicos de la corteza de *Calycophyllum spruceanum* Benth (capirona) frente a *Candida albicans* ATCC 10231 fueron de $16,47 \pm 0,44$ mm para el extracto de capirona al 100%; de $11,05 \pm 0,25$ mm para el extracto de capirona al 75%; de $9,11 \pm 0,43$ mm para el extracto de capirona al 50%; los grupos control obtuvieron halos de $5,98 \pm 0,41$ mm para el control negativo y para el control positivo fue de $26,66 \pm 0,40$ mm.

Los resultados se corroboran con los estudios realizados por **Roca M. (2019)** mediante su estudio realizado de los extractos acuosos, etanólicos y metanólicos de las hojas y corteza de capirona (*Calycophyllum spruceanum* Benth) frente a *Candida albicans*, observando que los extractos etanólicos de la corteza de *Calycophyllum spruceanum* Benth presentan mayor efecto contra *C. albicans* que el extracto metanólico, observándose este efecto a partir de la concentración de 50 mg/mL.

Por otro lado, el estudio de **Prado, M.** demostró mediante un estudio fitoquímico que *Calycophyllum spruceanum* Benth “capirona” presenta metabolitos activos como azúcares, saponinas, quinonas, flavonoides, cumarinas, iridoideas y taninos condensados, siendo uno o varios de estas sustancias las responsables de las propiedades medicinales y antimicóticas de la especie vegetal.

Parar determinar el efecto antifúngico del extracto hidroalcohólico de la corteza de *Calycophyllum spruceanum* Benth (capirona) comparado con nistatina frente a *Candida albicans* ATCC 10231 se procedió a aplicar las pruebas inferenciales de ANOVA y Tukey con un nivel de significancia del 0,05 encontrando que existe diferencia significativa entre todos los grupos de datos analizados, la prueba de Tukey confirmo de los grupos experimentales presenta menor efecto antifúngico que el grupo control de nistatina.

Se determinó la sensibilidad de *Candida albicans* ATCC 10231 frente al extracto hidroalcohólico de la corteza de *Calycophyllum spruceanum* Benth (capirona) a diferentes concentraciones mediante la escala de Durafourd como se muestra en la tabla 4, los resultados de los halos de inhibición del estudio determinaron que *Candida albicans* presenta **sensibilidad nula** al control negativo (etanol); es sensible al extracto hidroalcohólico de *Calycophyllum spruceanum* Benth (capirona) al 50% y 75%; es muy **sensible** al extracto hidroalcohólico al 100% y **altamente sensible** al control positivo (nistatina).

4.2. Conclusiones

- Se demostró el objetivo general del presente estudio y se determinó el efecto antifúngico in vitro del extracto hidroalcohólico de la corteza de *Calycophyllum spruceanum* Benth (capirona) frente a *Cándida albicans* ATCC 1023.
- Se determinó el efecto antifúngico del extracto hidroalcohólico de la corteza de *Calycophyllum spruceanum* Benth (capirona) al 50% mediante la formación de halo de inhibición promedio de $9,11 \pm 0,43$ mm frente a *Cándida albicans* ATCC 10231, siendo esta sensible al extracto.
- Se determinó el efecto antifúngico del extracto hidroalcohólico de la corteza de *Calycophyllum spruceanum* Benth (capirona) al 75% mediante la formación de halo de inhibición promedio de $11,05 \pm$

0,25mm frente a *Cándida albicans* ATCC 10231, siendo esta sensible al extracto.

- Se determinó el efecto antifúngico del extracto hidroalcohólico de la corteza de *Calycophyllum spruceanum* Benth (capirona) al 100% mediante la formación de halo de inhibición promedio de $16,47 \pm 0,44$ mm frente a *Cándida albicans* ATCC 10231, siendo esta muy sensible al extracto.
- El efecto antifúngico del extracto hidroalcohólico de la corteza de *Calycophyllum spruceanum* Benth (capirona) frente a *Candida albicans* ATCC 10231 es menor que la nistatina.

4.3. Recomendaciones

- Se recomienda a los futuros investigadores seguir realizando estudios sobre la actividad antifúngica de la corteza de *Calycophyllum spruceanum* Benth (capirona)
- Se requiere identificar los metabolitos secundarios contenidos en la corteza de *Calycophyllum spruceanum* Benth (capirona) mediante procedimientos analíticos que permitan potenciar su efecto antifúngico.
- Es necesario promover la investigación de las diferentes partes de *Calycophyllum spruceanum* Benth (capirona) para determinar donde se encuentran en mayor cantidad los principios activos con mayor capacidad antifúngica.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. La candidiasis persiste por una mutación del hongo [Internet]. El Mundo.es. Salud. 2016. Disponible en: <https://www.elmundo.es/elmundosalud/2006/07/28/biociencia/1154075632.html>
2. Saenz M. Manifestaciones cutáneas de las enfermedades sistémicas. Rev Médica Clínica Las Condes [Internet]. 1 de noviembre de 2016;22(6):749-56. Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-revista-medica-clinica-las-condes-202-articulo-manifestaciones-cutaneas-enfermedades-sistemicas-S0716864011704874>
3. Cortés J, Ruiz J, Melgarejo L, Lemos E. Candidemia en Colombia. Biomédica [Internet]. 2020;40:195-207. Disponible en: <https://doi.org/10.7705/biomedica.4400>
4. Mayer F, Wilson D, Hube B. Candida albicans pathogenicity mechanisms. Virulence [Internet]. 2016;4(2):119-28. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3654610/pdf/viru-4-119.pdf>
5. Zurita S. Situación de la resistencia antifúngica de especies del género Candida en el Perú. Rev Peru Med Exp Salud Publica [Internet]. 2018;35(1):126-31. Disponible en: <https://rpmesp.ins.gob.pe/index.php/rpmesp/article/view/3563/2997>
6. Maco L. IS y MM. SUSCEPTIBILIDAD DE CANDIDA ALBICANSA EXTRACTO ETANOLICO DE CASCARA DE PUNICA GRANATUM. Med Natur. 2020;14:59-64.
7. Peixoto H, Roxo M, Koolen H, Da Silva F, Silva E, Braun MS, et al. Calycophyllum spruceanum (Benth.), the Amazonian “Tree of Youth” Prolongs Longevity and Enhances Stress Resistance in Caenorhabditis elegans. Mol A J Synth Chem Nat Prod Chem [Internet]. 2018 [citado 25 de abril de 2022];23(3). Disponible en: [/pmc/articles/PMC6017494/](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6017494/)

8. Rojas N, Chaves E, García F. Bacteriología diagnóstica [Internet]. Universidad de Costa Rica. Costa Rica: Facultad de Microbiología; 2015. Disponible en: <https://es.scribd.com/document/238053742/BACTERIOLOGIA-DIAGNOSTICA>
9. Cruz S, Díaz P, Mazón G, Arias D, Calderon M, Herrera A. Genoma de *Candida albicans* y resistencia a las drogas. Red Rev Científicas América Lat el Caribe, España y Port [Internet]. 2017;33(3):438-50. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/817/81753881018.pdf>
10. Dookie R, García A, Silva E, Nunez C, Silva W, Fachin M. Phytochemical study and antimicrobial action of *Calycophyllum spruceanum* (Mulateiro) | Dookie | Brazilian Journal of Development. Brazilian Journal of Development [Internet]. 2021 [cited 2022 Jun 13];7(5). Available from: <https://www.brazilianjournals.com/index.php/BRJD/article/view/30573/24028>
11. Souza A, Karine A, Mirna K, Castilho R, Nobre G, Junqueira R. FITOQUÍMICOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DAS ESPÉCIES LAFOENSIA PACARI E CALYCOPHYLLUM SPRUCEANUM. Enciclopedia Biosfera, Centro Científico Conhecer-Goiania [Internet]. 2018;15(28). Available from: <https://www.conhecer.org.br/enciclop/2018B/SAU/fitoquimicos.pdf>
12. Magrini V, Fernández A, Fraige K, Siqueira D, Bolzani V. Phytochemical study of *Calycophyllum spruceanum* Benth (Rubiaceae) an Amazonian plant species traditionally used as skin protection , aiming at the identification of compounds useful for the cosmetic sector. Atibaia _SP- Brazil. 2016;1996.
13. Colque Manya B. 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. [cited 2022 Jun 13]; Available from: <https://orcid.org/0000-0002-4424-7684>

14. Gamboa M, Miranda E. Evaluacion de la actividad cicatrizante y toxicidad dermica del gel a base de extracto etanólico de la corteza de *Calycophyllum spruceanum* (Benth) Hook f. ex K. Schum “Capirona” en ratas albinas Holtzman. [Internet]. 2020. Available from: http://repositorio.uwiener.edu.pe/bitstream/handle/123456789/5094/T061_70085969_73986702_T.pdf?sequence=1&isAllowed=y
15. Roca M. Actividad bactericida y fungicida de tres tipos de extractos de hoja y cortez de capir [Internet]. 2019. Disponible en: https://repositorio.unas.edu.pe/bitstream/handle/UNAS/1431/MFRC_2019.pdf?sequence=1&isAllowed=y
16. Hernández R, Fernández C, Baptista P. Metodología de la Investigación [Internet]. 6ta ed. México, D.F.: Mc Graw Hill; 2014. Disponible en: https://periodicooficial.jalisco.gob.mx/sites/periodicooficial.jalisco.gob.mx/files/metodologia_de_la_investigacion_-_roberto_hernandez_sampieri.pdf
17. Anonimo. El diseño de investigación experimental [Internet]. 2016. Disponible en: http://histologia.ugr.es/pdf/Metodologia_III.pdf
18. Júnior R, Carrasco O, David R, Toledo V, Hansen OS. Percepción y actitudes hacia la investigación científica. Acad ISSN-e 2414-8938, Vol 5, Nº 2, 2018 (Ejemplar Dedic a Julio-Diciembre), págs 101-109 [Internet]. 2018 [citado 17 de febrero de 2022];5(2):101-9. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6566335&info=resumen&idioma=SPA>
19. Ríos R. Metodología para la investigación y redacción. Primera. España: Universidad de Málaga; 2017.
20. Hernández C. y Carpio N. Introducción a los tipos de muestreo. Rev

Científica del Inst Nac Salud «Alerta». 2019;2(1):75-9.

21. Farmacopea Britanica. Extractos. En: British Pharmacopoeia Vol III [Internet]. 2017. Disponible en: <https://www.plantas-medicinal-farmacognosia.com/temas/extractos/>
22. Hudzicki J. Kirby-Bauer Disk Diffusion Susceptibility Test Protocol Author Information. Am Soc Microbiol [Internet]. 2016;(December 2009):1-13. Disponible en: <https://www.asm.org/Protocols/Kirby-Bauer-Disk-Diffusion-Susceptibility-Test-Pro>
23. Clinical and Laboratory Standards Institute. M100: Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, 30th Edition [Internet]. CLSI. 2020. Disponible en: <https://clsi.org/standards/products/microbiology/documents/m100/>
24. Díaz V. Metodología de la Investigación Científica y Bioestadística [Internet]. 2da ed. RIL®, editor. Chile: Universidad Finis Terrae; 2010. 564 p. Disponible en: <https://www.digitaliapublishing.com/a/29778/metodologia-de-la-investigacion-cientifica-y-bioestadistica--2a-ed.->
25. Zurita S. Urcia F. Manual De Procedimientos Técnicos Para El Diagnóstico Micológico [Internet]. 2017. 139 p. Disponible en: [https://repositorio.ins.gob.pe/bitstream/handle/INS/915/Manual de procedimientos tecnicos para el diagnostico micologico.final.pdf?sequence=1](https://repositorio.ins.gob.pe/bitstream/handle/INS/915/Manual_de_procedimientos_tecnicos_para_el_diagnostico_micologico.final.pdf?sequence=1)
26. MINSA/DIGESA. Norma Técnica de Salud: " Gestión y Manejo de Residuos Sólidos en Establecimientos de Salud y Servicios Médicos de Apoyo a nivel Nacional ". Norma Tec Salud N° N° 096- MINSA/DIGESA-V01. 2010;1:63.

ANEXO

Anexo A. Instrumentos de recolección de datos

N° de Repeticiones	Extracto alcohólico de <i>Calycophyllum spruceanum</i> Benth			Grupos control	
	50%	75%	100%	Negativo	Positivo
1	9,15	11,11	16,37	6,05	26,63
2	9,74	11,33	16,28	6,17	26,96
3	8,42	11,58	16,65	5,96	26,57
4	8,70	11,18	16,22	6,28	26,85
5	8,62	10,87	16,82	6,03	25,96
6	9,06	11,41	16,59	5,34	27,22
7	9,98	10,91	17,29	6,36	26,90
8	9,05	10,90	16,28	5,92	26,45
9	9,25	10,73	15,89	5,71	27,13
10	8,88	11,02	16,88	5,39	27,10
11	8,83	11,17	16,33	6,40	26,22
12	9,41	10,90	16,13	6,41	26,39
13	9,30	11,05	15,78	6,57	26,85
14	9,52	10,63	17,23	5,72	26,00
15	8,75	11,02	16,29	5,32	26,65

Anexo B. Matriz de consistencia

EFFECTO ANTIFÚNGICO *in vitro* DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LA CORTEZA DE *Calycophyllum spruceanum* Benth (capirona) FRENTE A *Cándida albicans* ATCC 10231

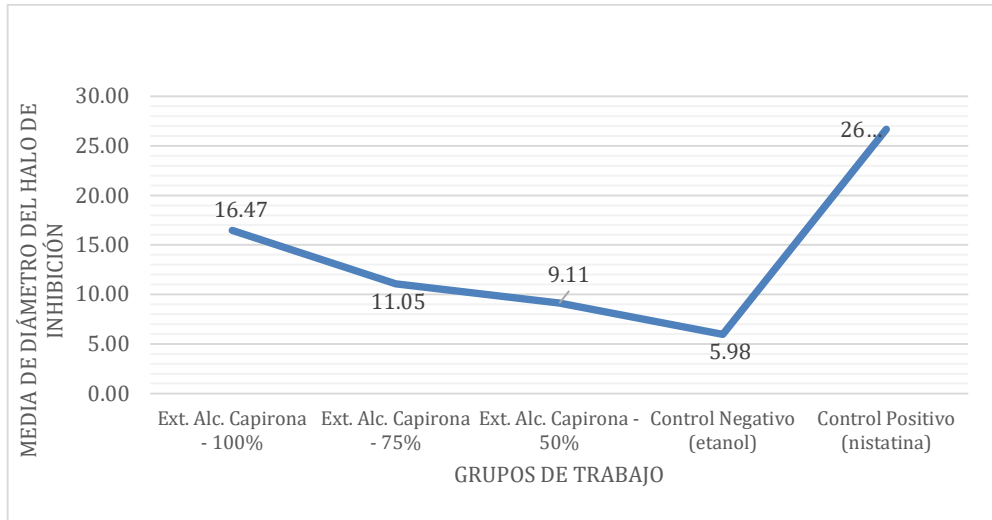
Formulación del problema	Objetivos	Hipótesis
Problema General	Objetivo General	Hipótesis General
¿Cuál será el efecto antifúngico del extracto hidroalcohólico de la corteza de <i>Calycophyllum spruceanum</i> Benth (capirona) ante a <i>Candida albicans</i> ATCC 10231?	Demostrar el efecto antifúngico <i>in vitro</i> del extracto hidroalcohólico de la corteza de <i>Calycophyllum spruceanum</i> Benth (capirona) frente a <i>Cándida albicans</i> ATCC 10231	El extracto hidroalcohólico de la corteza de <i>Calycophyllum spruceanum</i> Benth (capirona) presenta efecto antifúngico <i>in vitro</i> del frente a <i>Cándida albicans</i> ATCC 10231
Problemas Específicos	Objetivos Específicos	Hipótesis Específicas
¿Presentará efecto antifúngico el extracto hidroalcohólico de la corteza de <i>Calycophyllum spruceanum</i> Benth (capirona) al 50% frente a <i>Cándida albicans</i> ATCC 10231?	Determinar el efecto antifúngico del extracto hidroalcohólico de la corteza de <i>Calycophyllum spruceanum</i> Benth (capirona) al 50% frente a <i>Cándida albicans</i> ATCC 10231	El extracto hidroalcohólico de la corteza de <i>Calycophyllum spruceanum</i> Benth (capirona) al 50% presenta efecto antifúngico frente a <i>Cándida albicans</i> ATCC 10231
¿Presentará efecto antifúngico el extracto hidroalcohólico de la corteza de <i>Calycophyllum spruceanum</i> Benth (capirona) al 75% frente a <i>Cándida albicans</i> ATCC 10231?	Determinar el efecto antifúngico el extracto hidroalcohólico de la corteza de <i>Calycophyllum spruceanum</i> Benth (capirona) al 75% frente a <i>Cándida albicans</i> ATCC 10231	El extracto hidroalcohólico de la corteza de <i>Calycophyllum spruceanum</i> Benth (capirona) al 75% presenta efecto antifúngico frente a <i>Cándida albicans</i> ATCC 10231
¿Presentará efecto antifúngico el extracto hidroalcohólico de la corteza de <i>Calycophyllum spruceanum</i> Benth (capirona) al 100% frente a <i>Cándida albicans</i> ATCC 10231?	Determinar el efecto antifúngico el extracto hidroalcohólico de la corteza de <i>Calycophyllum spruceanum</i> Benth (capirona) al 100% frente a <i>Cándida albicans</i> ATCC 10231	El extracto hidroalcohólico de la corteza de <i>Calycophyllum spruceanum</i> Benth (capirona) al 100% presenta efecto antifúngico frente a <i>Cándida albicans</i> ATCC 10231
¿Cuál será el efecto antifúngico del extracto hidroalcohólico de la corteza de <i>Calycophyllum spruceanum</i> Benth (capirona) comparado con nistatina frente a <i>Candida albicans</i> ATCC 10231?	Comparar el efecto antifúngico del extracto hidroalcohólico de la corteza de <i>Calycophyllum spruceanum</i> Benth (capirona) con nistatina frente a <i>Candida albicans</i> ATCC 10231	El extracto hidroalcohólico de la corteza de <i>Calycophyllum spruceanum</i> Benth (capirona) presenta mayor efecto antifúngico frente a <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 comparado con nistatina.

Anexo C. Operacionalización de las variables

VARIABLES	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	DIMENSIONES	INDICADORES	ESCALA DE MEDICIÓN	Nº DE ÍTEM S	VALOR
Extracto hidroalcohólico de <i>Callycophyllum spruceanum</i> Benth (capirona)	Solución acuosa obtenida mediante maceración con etanol de 70°C de las cortezas de <i>Callycophyllum spruceanum</i> Benth (capirona).	Extracto hidroalcohólico obtenido por medio de maceración	Concentraciones	100 75 50	Ordinal	3	%
Efecto antifúngico frente a <i>Candida albicans</i>	Respuesta inhibitoria en el crecimiento de <i>Candida albicans</i> ATCC 10231	Medición de los halos de inhibición formados	Diámetro del halo de inhibición	≤ 8mm 8mm a 14mm 15mm a 20mm > a 20mm	Ordinal	4	Nula Sensible Medio Muy sensible

Anexo D. Análisis estadístico paramétrico de los datos recolectados

Figura: 1. Efecto antifúngico de los extractos alcohólicos de la corteza de *Calycophyllum spruceanum* Benth (capirona) frente a *Candida albicans* ATCC 10231.



Fuente: SPSS ver. 26

Interpretación:

La figura 1 muestra el comportamiento del efecto antifúngico en función del tamaño del diámetro del halo de inhibición, se observa un efecto creciente de los extractos alcohólicos de la corteza de *Calycophyllum spruceanum* Benth (capirona) con respecto a la concentración, el control negativo muestra el menor tamaño del diámetro del halo de inhibición, y el control positivo (nistatina) representa el mayor efecto antifúngico.

Tabla 5. Determinación de la distribución normal de los datos recolectados

	Grupos de trabajo	Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.
Diámetro del halo de inhibición (mm)	Ext. Alc. Capirona - 100%	0,946	1 5	0,45 8
	Ext. Alc. Capirona - 75%	0,974	1 5	0,91 3
	Ext. Alc. Capirona - 50%	0,980	1 5	0,97 2
	Control Negativo (etanol)	0,934	1 5	0,30 8
	Control Positivo (nistatina)	0,951	1 5	0,54 0

Fuente: SPSS ver. 26

En la tabla 5, se determinó el comportamiento de los datos recolectados en función al tipo de distribución, para tal efecto se aplicó la prueba de Shapiro-Wilk, a cada grupo de datos estudiados obteniendo en todos los casos valores de significancia superiores al 0,05, en tal sentido se confirma que existe un comportamiento normal en la distribución de los datos recolectados en todos los grupos de tratamientos.

Tabla 6. Prueba de homogeneidad de varianzas (Levene)

		Estadístico de Levene	df 1	df2	p-valor
Díámetro del halo de inhibición	Se basa en la media	1,303	4	70	0,277
	Se basa en la mediana	0,983	4	70	0,423
	Se basa en la mediana y con gl ajustado	0,983	4	60,446	0,424
	Se basa en la media recortada	1,295	4	70	0,280

Fuente: SPSS ver. 26

En la tabla 6, se realizó el análisis de la homogeneidad de la varianza mediante la aplicación de la prueba de Levene, esta prueba obtuvo un p-valor de 0,277 basado en la media, lo que confirma que las medias de los grupos analizados presentan varianzas homogéneas.

Anexo E. Certificado de *Candida albicans* ATCC 10231



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

Specifications Microorganism Name: <i>Candida albicans</i> Catalog Number: 0443 Lot Number: 443-1006** Reference Number: ATCC® 10231™* Purity: Pure Passage from Reference: 3	Expiration Date: 2022/12/28 Release Information: Quality Control Technologist: Alexandra D Stensvad Release Date: 2020/11/18
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) Chlamyospore production: positive  Amanda Kuperus Quality Control Manager AUTHORIZED SIGNATURE
<p><small>*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.</small></p> <p><small>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.</small></p> <p><small>⚠ Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information.</small></p> <p><small>Individual products are traceable to a recognized culture collection.</small></p> <div style="display: flex; justify-content: space-around;"> <div data-bbox="381 1197 552 1333">  <small>ACCREDITED</small> <small>REFERENCE MATERIAL PRODUCER</small> <small>CERT #2855.02</small> </div> <div data-bbox="381 1333 1315 1386"> <small>(*) 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.</small> </div> </div> <div style="display: flex; justify-content: space-around; margin-top: 20px;"> <div data-bbox="381 1396 552 1533">  <small>ACCREDITED</small> <small>TESTING CERT #2655.01</small> </div> <div data-bbox="592 1522 901 1543"> <small>(1) These tests are accredited to ISO/IEC 17025:2005.</small> </div> </div>	

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	Candida albicans	2.11

Comments:

n/a

Anexo F. Identificación taxonómica de *Calycophyllum spruceanum* Benth (capirona)

Hamilton W. Beltrán S.
Consultor Botánico
Calle Natalio Sánchez 251- Jesús María
hamiltonbeltran@yahoo.com

CERTIFICACIÓN BOTÁNICA

El Biólogo colegiado, certifica que la planta conocida como “CAPIRONA” proporcionada por los Bachilleres, YENIFER YOANA LLAMO PAQUIRACHIN y PETER JEAN CLAUDE DEL CARPIO PACO, Tesistas de la Universidad Maria Auxiliadora, ha sido estudiada científicamente y determinada como *Calycophyllum spruceanum* Benth (capirona) y de acuerdo al Sistema de Clasificación de Cronquist 1981, se ubica en las siguientes categorías:

Reino: Plantae
División: Magnoliophyta
Clase: Magnoliopsida
Subclase: Asteridae
Orden: Rubiales
Familia: Rubiaceae
Género: *Calycophyllum*
Especie: *Calycophyllum spruceanum* Benth

Se expide la presente certificación a solicitud de los interesados para los fines que estime conveniente.

Lima, 03 marzo 2022


Bigo. Hamilton Beltrán
Bigo. Wlner Beltran Santiago
Físico - Botánico
C.R. 2719

Anexo G. Evidencias de la parte experimental de la investigación

Figura 1. Recolección de la muestra



Figura 2. Aplicando criterios de selección en la muestra



Figura 3. Lavado y secado de la muestra



Figura 4. Pulverizado de la muestra



Figura 5. Procedimiento de maceración



Figura 6. Filtrado del macerado obtenido



Figura 7. Preparación de los extractos de *Calycophyllum spruceanum* Benth (capirona)





Figura 8. Activación de la cepa de *Candida albicans* ATCC ATCC 10231



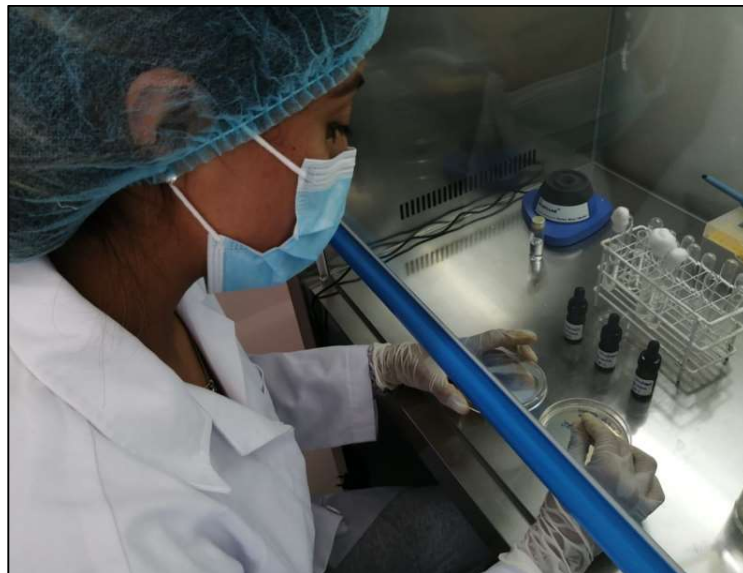
Figura 9. Preparación del inóculo - Escala de McFarland



Figura 10. Sembrado del inóculo



Figura 11. Acondicionamiento de los pocitos en cultivos en agar



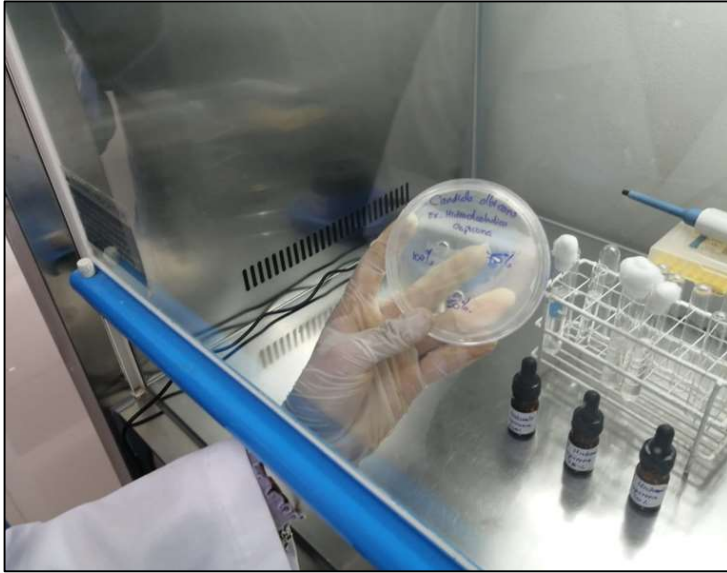


Figura 12. Aplicación de los extractos

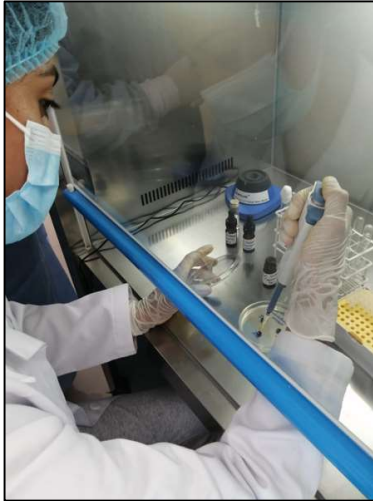


Figura 13. Formación de los halos de inhibición





Figura: 14. Medición de los halos de inhibición



