



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

ACTIVIDAD ANTIMICÓTICA DEL EXTRACTO METANÓLICO DE LAS
HOJAS DE *Justicia secunda Vahl* (Planta de insulina) FRENTE A
Cándida albicans ATCC in vitro.

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE QUÍMICO FARMACÉUTICO

AUTORES:

BACH. BECERRA JIMENEZ, CHRISTIAM JOEL
BACH. MEZA NAUCA, LUCERO DEL ROCIO

ASESOR:

Mg. Q.F. FLORES LOPEZ, OSCAR

LIMA – PERÚ
2020

Dedicatoria

A Dios, por haberme permitido llegar hasta donde estoy y darme salud para poder lograr uno de mis objetivos

A mis padres y hermanos por brindarme su apoyo moral e incondicional, por ser mi gran motivación para nunca rendirme y seguir adelante.

Lucero Del Rocio Meza Nauca

Para Ti, que además de ser mi Abuela, fuiste y serás mi segunda madre, por los consejos, valores y aportes que has realizado para mi vida que son simplemente invaluable. Y aunque ahora en el cielo sé que guías mis pasos y aún me sigues cuidando al igual que mi abuelo.

Muchas gracias viejita linda, te extraño y quiero muchísimo.

Christian Joel Becerra Jimenez

Agradecimiento

Agradecer a Dios, por guiarme en el transcurso del camino y por hacerme entender que, aunque se presenten obstáculos jamás nos abandona y así permitirme lograr una de mis metas.

A mi madre Luz Nauca Alva y a mi padre Raul Meza Meyra, quienes con mucho esfuerzo, cariño, amor, apoyo incondicional y ejemplo han hecho de mí una persona con valores para poder desenvolverme como profesional de la Salud.

A mi asesor de tesis por su apoyo total, experiencia y profesionalismo que ha hecho posible la finalización de mi trabajo.

Lucero Del Rocio Meza Nauca

Ah, Dios por brindarme el regalo de la vida y bendecirme con su infinita misericordia en cada paso que doy.

Ah, Mis Padres por todo el amor, los consejos, la comprensión y la paciencia que siempre me brindan para sentirme bien y seguir adelante.

Christiam Joel Becerra Jimenez

Índice General

Resumen	viii
Abstract	ix
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MATERIALES Y MÉTODOS	6
2.1 Enfoque y diseño de investigación	
2.3 Variables de investigación	
2.4 Técnica e instrumento de recolección de datos	
2.5 Proceso de recolección de datos	
2.7 Aspectos éticos	
III. RESULTADOS	11
IV. DISCUSIÓN	20
4.1. Discusión	
4.2. Conclusiones	
4.3. Recomendaciones	
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	25
ANEXOS	28

Índice de Tablas

Tabla 1. Estadística descriptiva para los distintos tratamientos del extracto metanólico de Justicia secunda “Insulina” frente a <i>Cándida albicans</i>	11
Tabla 2. Estadística descriptiva para los tratamientos de los grupos control frente a <i>Cándida albicans</i>	12
Tabla 3. Prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov corregida por Lilliefors para cada tratamiento.....	13
Tabla 4. Prueba de homogeneidad de varianzas por grupos.....	14
Tabla 5. Análisis de la varianza para las variables de estudio	14
Tabla 6. Comparaciones múltiples de las medias mediante prueba de Tukey.....	15
Tabla 7. Análisis por sub grupos homogéneos.....	17
Tabla 8. Análisis mediante Chi-cuadrado para el control negativo y el extracto metanólico al 50% de Justicia secunda.....	18

Índice de Figuras

Figura 1. Comportamiento del tamaño del halo de inhibición formados por los tratamientos frente a <i>Candida albicans</i>	12
Figura 3. Recolección de la muestra	34
Figura 2. Justicia secunda (planta de insulina) en zona de cultivo.....	34
Figura 4. Secado de la muestra	34
Figura 5. Acondicionamiento en papel Kraft para secado de	35
Figura 6. Triturado de la muestra	35
Figura 7. Secado en estufa de hojas de la planta de insulina	35
Figura 8. Pulverización de la muestra	36
Figura 9. Tamizaje de la muestra vegetal	36
Figura 10. Preparación y maceración de los extractos.....	37
Figura 11. Filtrado del extracto metanólico.....	37
Figura 12. Lectura de los halos de inhibición	38

Índice de Anexos

Anexo A: Operacionalización de las variables.....	29
Anexo B: Instrumento de recolección de datos	30
Anexo C: Clasificación taxonómica	31
Anexo E. Certificado de análisis de la cepa <i>Candida albicans</i> ATCC 10231	32
Anexo F. Evidencias de trabajo de campo	34

Resumen

Objetivo: Demostrar el efecto antimicótico “in vitro” del extracto metanólico de *Justicia secunda Vahl* (planta de insulina) frente a *Cándida albicans*

Material y método: La planta *Justicia secunda Vahl* (planta de insulina) fue recolectada en el distrito de Motupe, departamento de Lambayeque, se obtuvo 300 gramos de hojas pulverizadas y maceró por 10 días con metanol, se evaporó y reconstituyó en proporción 1:1 con metanol (100%), a partir de esta concentración se prepararon concentraciones al 75% y 50%, la determinación de la actividad antimicótica se realizó mediante la técnica de difusión en pozo con agar Mueller Hinton, se aplicaron en cada placa 20µL de cada extracto en los pozos y también los controles negativo (metanol) y positivo (nistatina), se emplearon 30 placas petri para el estudio.

Resultados: Se obtuvo halos de inhibición de 6.07mm, 9.52mm y 11.06mm para los extractos metanólicos al 50%, 75% y 100%, el control negativo y positivo presentaron halos de inhibición promedios de 6.04mm y 25.14mm. La prueba Chi- cuadrada aplicada al control negativo y extracto metanólico encontró que estos grupos de datos estadísticamente similar, sin embargo, el análisis mediante la Prueba de Tukey encontró diferencias significativas en las medias de los halos de inhibición del extracto metanólico al 75%, 100% y control positivo.

Conclusiones: Se determinó actividad antimicótica del extracto metanólico de *Justicia secunda Vahl* (planta de insulina) a las concentraciones de 75%, 100% pero estos resultaron ser significativamente menor al efecto de la nistatina sobre *Candida albicans*.

Palabras clave: *Justicia secunda*, *planta de insulina*, *extracto metanólico*, *Candida albicans*.

Abstract

Objective: To demonstrate the antifungal effect "in vitro" of the methanolic extract of *Justicia secunda* Vahl (insulin plant) against *Candida albicans*

Material and method: The *Justicia secunda* Vahl plant (insulin plant) was collected in the district of Motupe, department of Lambayeque, 300 grams of powdered leaves were obtained and macerated for 10 days with methanol, evaporated and reconstituted in a 1: 1 ratio with methanol (100%), from this concentration 75% and 50% concentrations were prepared, the determination of the antifungal activity was carried out by means of the well diffusion technique with Muller Hinton agar, 20 μ L of each extract in the wells and also the negative (methanol) and positive (nystatin) controls, 30 petri dishes were used for the study.

Results: Inhibition halos of 6.07mm, 9.52mm and 11.06mm were obtained for the methanolic extracts at 50%, 75% and 100%, the negative and positive control experienced mean inhibition halos of 6.04mm and 25.14mm. The Chi-square test applied to the negative control and methanolic extract found that these data groups were statistically similar, however, the analysis by means of the Tukey test found significant differences in the means of the inhibition halos of the methanolic extract at 75%, 100 % and positive control.

Conclusions: Antifungal activity of the methanolic extract of *Justicia secunda* Vahl (insulin plant) was determined at concentrations of 75%, 100%, but these were significantly lower than the effect of nystatin on *Candida albicans*.

Key words: *Justicia secunda*, insulin plant, methanolic extract, *Candida albicans*.

I. INTRODUCCIÓN

Debido a la ubicuidad que presentan los hongos en el medio ambiente y las enfermedades que producen, se observa un incremento en la demanda de los medicamentos antimicóticos ¹.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) reconoce que en el mundo existe una falta de acceso a los medicamentos esenciales. En el sector público se cuenta con un 34.9% de los medicamentos genéricos y el costo es del 250% más que el promedio de referencia internacional, sin embargo, en el sector privado se cuenta con los mismos medicamentos en un porcentaje promedio de 63.2% pero el precio se incrementa en un 650% ².

En el Perú se observa según el último reporte de la Dirección General de Insumos Medicamentos y Drogas (DIGEMID), que existe un 16.2% de establecimientos farmacéuticos con baja disponibilidad de medicamentos, el 57.2% es regular y el 23.7% tiene un óptimo nivel de disponibilidad; realidad que es desigual en todos los departamentos del Perú³.

El departamento de Ayacucho es el que presenta el más bajo nivel de abastecimiento con un 1.9%, sin embargo, Apurímac presenta los índices más altos de abastecimiento con un 23.7% ⁴.

En el departamento de Lambayeque se observa que solo el 15% de la población tiene acceso al seguro integral de salud y a través de este tienen acceso a los medicamentos esenciales. Lamentablemente los servicios de farmacia de los centros de salud presentan deficiente abastecimiento de medicamentos esenciales, esto evita que los pacientes completen su tratamiento o lo que es peor nunca lo inicien⁵.

Esta problemática es más acentuada en las zonas lejanas como Inkahuasi, Oyotún, Saña, Pátapo donde el acceso a medicamentos esenciales de bajo costo es casi imposible, por lo que las enfermedades se prolongan y llegan a presentarse casos graves que complican el tratamiento⁶.

Ante esta situación es necesario obtener alternativas de solución a las enfermedades más comunes para evitar complicaciones futuras. El uso de plantas medicinales para tratar enfermedades ha sido empleado por nuestros ancestros desde la antigüedad, pero ha disminuido con la aparición de los medicamentos, perdiéndose costumbres y conocimientos transmitidos de generación en generación.

El presente proyecto pretende encontrar propiedades medicinales en *Justicia secunda Vahl* (planta de insulina) que nos permitan demostrar su eficacia en el tratamiento de micosis comunes como las producidas por *Candida albicans*.

El género *Justicia* abarca un promedio de 420 especies de plantas, que pertenecen a la familia *Acanthaceae*. *Justicia secunda Vahl*, es un arbusto pequeño que puede alcanzar hasta 1 metro de altura. Su origen se remonta en lugares tropicales y templados, como América del sur, y se conoce con varios nombres comunes tales como: singamochilla, insulina, sanguinaria, curatodo, canilla de pollo, la hoja de la vida, etc⁷.

Los estudios fitoquímicos de esta planta muestran la presencia de alcaloides, flavonoides, taninos, quininas, antocianinas, luteolina, acetato de aurantamida, auranamida, quindolina y derivados de pirrolidona⁸.

En la medicina herbolaria se utilizan las hojas y ramas para aliviar y contrarrestar ciertas molestias como inflamaciones, se usa en la artritis, presenta efectos sedantes, alucinógenos, somníferos, antiepiléptico, presenta efecto abortivo, anticancerígeno, antioxidante, como cicatrizante y hemostático, combate los cálculos renales y enfermedades prostáticas, analgésica, disminuye la cantidad de ácido úrico, antibacteriano, antianémico, antiseptico⁹

Por otro lado, *Candida albicans*, es el hongo que más micosis produce en las personas. Forma parte de la flora comensal de la vagina, tracto gastrointestinal y mucosa bucal. Las manifestaciones clínicas por esta especie incluyen el muguet, vaginitis, endocarditis, infecciones cutáneas, afectación pulmonar, meningitis, queratomycosis, cistitis, absceso cerebral, entre otras¹⁰.

Según las investigaciones realizadas por Oldea D. (2016), manifiesta que los principales factores de virulencia de *Candida albicans* que contribuyen al aumento en su capacidad de infectar son la germinación rápida en los tejidos después de diseminarse por el torrente circulatorio; la producción de proteasas, las adhesinas para las proteínas de la matriz extracelular, los receptores de unión al complemento y los cambios fenotípicos¹⁰.

Bustamante, S. (2018) determinó la actividad antimicótica que presenta *Tagetes filifolia* (anisillo) frente a *Candida albicans* ATCC 10231 la técnica empleada para la obtención del aceite fue de destilación por arrastre con vapor de agua y el extracto etanólico se realizó mediante la técnica de maceración con etanol al 70°, la actividad antimicótica se determinó mediante el método de difusión en placa, según Kirby – Bauer, los resultados mostraron que el aceite esencial tuvo un halo de inhibición de 11.55 mm y 13.28 mm para el extracto etanólico, en el estudio fitoquímico demostró la presencia de carbohidratos, azúcares reductores, taninos, flavonoides, compuestos fenólicos, antraquinonas y trazas de alcaloides¹¹.

Abiodun et al (2020) investigaron los componentes fitoquímicos y la actividad antibacteriana in vitro de los extractos de hojas de *Justicia secunda* Vahl sobre microorganismos patógenos clínicos seleccionados. Se prepararon extractos acuosos, etanólico y metanólico de hojas de la planta y se concentraron utilizando un evaporador rotatorio. El análisis fitoquímico se llevó a cabo mediante métodos estándar mientras que la actividad antibacteriana de los extractos frente a los aislados clínicos se determinó mediante el método de difusión en pozos de agar. La investigación encontró saponinas, taninos, flavonoides, glucósidos cardíacos, terpenoides, esteroides, antraquinonas y alcaloides estaban presentes en el metanol, etanol y extractos acuosos, mientras que los glucósidos cardíacos y alcaloides estaban ausentes en el extracto acuoso. Todos los extractos tenían actividad antibacteriana contra las bacterias de prueba a 150 mg / mL para *E. coli*¹².

Kitadi J. et al (2019), realizaron una revisión sobre la Fitoquímica y Farmacología de *Justicia secunda* Vahl. y especies de Justicia de varias bases de datos electrónicas (Science Direct, PubMed Central, PubMed y Google Scholar). Los resultados revelaron

que esas plantas se utilizan tradicionalmente para el tratamiento de enfermedades respiratorias y gastrointestinales, así como para la inflamación. Estas plantas también se utilizan por sus efectos sobre el sistema nervioso central como alucinógenos, agentes somníferos, sedantes, depresores y tratamientos para la epilepsia y otros trastornos mentales. Otras especies se utilizan popularmente en el tratamiento del dolor de cabeza y fiebre, sedantes, propiedades analgésicas, cáncer, diabetes y VIH¹³.

De Sousa T. et al (2018) identificó la caracterización fitoquímica y las actividades biológicas de *Justicia pectoralis* sobre cepas de *A. baumannii* y *K. pneumoniae*. Dicha es estudio fitoquímico lo realizaron por cromatografía en capa fina (TLC) y por HPLC (Cromatografía Líquida de Alta Resolución) y la evaluación del efecto antibacteriano se realizó por el método de micro dilución, obteniendo la Concentración Inhibitoria Mínima y la Concentración Bactericida Mínima, los principales compuestos de los extractos que encontraron fueron cumarinas y ácido elágico, además el extracto orgánico presentó actividad bacteriostática contra *A. baumannii* y *K. pneumoniae*¹⁴.

Onoja S. et al (2017) evaluó las actividades antioxidantes, antinociceptivas y antiinflamatorias in vitro del extracto metanólico de la hoja de *Justicia secunda* Vahl. mediante modelos de edema de pata inducido por carragenina y formalina, y la actividad antinociceptiva se evaluó utilizando modelos de prueba de reflejo de contorsión y movimiento de la cola inducidos por ácido acético, mientras que la actividad antioxidante se evaluó utilizando 2,2-difenil-2, estudio sugiere que *J. secunda* posee actividades antiinflamatorias, antinociceptivas y antioxidantes y también proporciona la base farmacológica para sus usos en la medicina tradicional para estos fines⁸.

El presente estudio ve especial interés en las enfermedades producidas por hongos especialmente del género *Candida*, que muestran una gran prevalencia en la población especialmente la de bajos recursos debido a falta de conocimiento y de medicamentos accesibles.

Las propiedades medicinales de *Justicia secunda* Vahl (planta de insulina) serán obtenidas mediante dos métodos de extracción reconocidos y muy empleados en

investigación, lo cual nos permitirá demostrar el efecto antimicótico de esta planta mediante un estudio microbiológico in vitro.

La información que nos proporcione el desarrollo del proyecto de investigación permitirá emplear y plantear el uso de esta planta en el tratamiento alternativo de enfermedades micóticas de pacientes con bajos recursos, en zonas donde los medicamentos básicos no son accesibles, emplearlo como una terapia conjunta al tratamiento farmacológico mejorando la eficacia y reduciendo los periodos de tratamiento.

El proyecto aportará nuevo conocimiento sobre *Justicia secunda Vahl* (planta de insulina), esto brindará información a futuras investigaciones sobre esta planta y promoverá nuevas, los beneficios de esta especie pueden ayudar al tratamiento de enfermedades micóticas muy comunes en la población como son la Candidiasis, beneficiar en la economía de las personas al ser una planta muy común y de bajo costo e implementar programas de tratamiento alternativo de enfermedades comunes en el sector salud con plantas medicinales de reconocido efecto antimicótico.

En la presente investigación tenemos como objetivo general: demostrar el efecto antimicótico “in vitro” del extracto metanólico de *Justicia secunda Vahl* (planta de insulina) frente a *Cándida albicans* para lo cual hemos planteado la siguiente hipótesis: El extracto metanólico de *Justicia secunda Vahl* (planta de insulina) presentan efecto antimicótico “in vitro” frente a *Candida albicans* ATCC 10231

II. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Enfoque y diseño de investigación

La investigación presenta un enfoque cuantitativo con diseño experimental debido a que las variables son manipuladas intencionalmente por el investigador en condiciones establecidas^{15,16}.

Explicativo: Porque el estudio busca explicar la relación de causa y efecto.

Prospectivo: La recolección de datos se realiza luego de iniciada la ejecución de la investigación.

El diseño gráfico experimental se muestra a continuación:

G1	-----	X1	-----	O1
G2	-----	X2	-----	O2

G : Cepas de *Candida albicans*

X : Tratamientos (extracto metanólicos y controles)

O1: Efecto Observado

2.2 Población, muestra y muestreo

La población está conformada por la especie vegetal *Justicia secunda Vahl* (Planta de insulina) recolectada en el distrito de Motupe, provincia de Chiclayo, departamento de Lambayeque ubicado a 6.154°S y 79.721°O, la muestra recolectada fue de 800 gr. de hojas frescas de la planta mediante un tipo de muestreo no probabilístico por conveniencia.

2.3 Variables de investigación

La variable de dependencia será la actividad antimicótica sobre la que se evaluó la variable independiente, el extracto metanólico, según la naturaleza del estudio es una variable cuantitativa con escala de medición de razón¹⁵.

VARIABLE INDEPENDIENTE	DIMENSIONES	TIPO	ESCALA
Extracto metanólico de <i>Justicia secunda</i> Vahl. "Planta de insulina"	Análisis fitoquímico	Cuantitativo	Nominal
VARIABLE DEPENDIENTE	DIMENSIONES	TIPO	ESCALA
Efecto antimicótico	Medición de halos	Cuantitativo	Ordinal

Definición conceptual: La actividad antibacteriana es la disminución o inhibición en el crecimiento que produce el extracto metanólico¹⁷.

Definición operacional: Medición del halo de inhibición sobre la cepa de *Candida albicans* por el extracto metanólico

Variable independiente: Extracto metanólico de *Justicia secunda* Vahl. "Planta de insulina"

Definición conceptual: Extracto al 50%, 75% y 100% obtenido con metanol de la planta *Justicia secunda* Vahl. "Planta de insulina"

Definición operacional: Extracto elaborado mediante maceración en frío con metanol.

Variable dependiente: Efecto antibacteriano sobre *Candida albicans*

Definición conceptual: El efecto antibacteriano se mide por la inhibición del crecimiento de *Candida albicans*

Definición operacional: La medición del diámetro de la zona de inhibición se relaciona con el efecto antimicótico.

2.4 Técnica e instrumento de recolección de datos

Difusión en pozo: Técnica que se empleó para la determinación de la actividad antimicótica mediante la cual se realizan pozos de 6 mm de diámetro en una placa Petri conteniendo *Candida albicans* en agar nutritivo¹⁸.

Instrumento de recolección de datos: Se empleará el pie de rey o vernier digital para realizar las mediciones de los halos de inhibición, debido a que ofrece mayor precisión en la medición de diámetros pequeños.

2.5 Proceso de recolección de datos

2.5.1. Autorización y coordinaciones previas para la recolección de datos

Se ubicó la zona de cultivo de la especie vegetal y solicitó los permisos de acceso respectivos a los propietarios, se obtuvo dos muestras vegetales de aproximadamente 30 cm las cuales presentaron todas las características de la planta (flores, hojas, fruto, sección de tallo), luego fue limpiada y colocada en cartulina A3 posteriormente prensada y llevada a identificación taxonómica, se coordinó así mismo, la obtención de la cepa microbiológica antes de iniciar la ejecución con un laboratorio microbiológico.

2.5.2. Recolección y preparación de la muestra vegetal

La muestra vegetal fue recolectada en el distrito de Motupe, provincia de Chiclayo, departamento de Lambayeque en la zona ubicada en 6°09'12.9"S 79°43'21.2"W, se recolectó aproximadamente 1000 gramos de hojas las que fueron lavadas y secadas a corriente de aire directa bajo sombra o cerca de una ventana por 48 horas, posteriormente se llevará a estufa a una temperatura de 30°C por 5 horas, luego se retiró y trituró de manera manual y posteriormente se pulverizó con un molino de cuchillas, se pasó por un tamiz la muestra y separará el polvo fino obtenido.

2.5.3. Preparación del extracto metanólico:

Se pesó 400 gramos de muestra pulverizada y agregó 1200 ml de metanol, agitó y dejó en reposo por 10 días en la oscuridad, cada 8 horas agitó la muestra hasta terminar el periodo de tiempo indicado, luego se retiró y filtró con papel de filtro, el extracto obtenido se llevó a evaporación a 40°C en baño maría hasta sequedad por 24 horas.

Luego de se reconstituyó la muestra a una concentración de 1 gr/ml la que se consideró el 100% y a partir de esta se obtuvieron por diluciones las concentraciones de 75% y 50%.

2.5.4. Activación y sembrado de la cepa de *Cándida albicans*

Una vez activada la cepa ATCC según protocolo establecido por el proveedor, se sembró dicha bacteria en medios de cultivos selectivos y se dejó por 24 horas a 35°C \pm 1, posteriormente se realizó diluciones seriadas y hasta obtener una concentración igual al tubo 0.5 de la escala de McFarland, luego se sembró con un hisopo estéril sobre la superficie de las placas Petri en un medio de agar Miuller Hinton.

2.5.5. Determinación de la actividad antimicótica

En las placas sembradas con *Cándida albicans* se realizaron pozos de 6 mm de diámetro y colocaron 20 μ L de cada extracto, del mismo modo se aplicaron los controles negativos (metanol) y positivo (nistatina), se llevaron a incubación por 24 horas a 35°C \pm 1, transcurrido este tiempo se procedió a tomar las medidas de los halos formados con el pie de rey en cada placa para cada concentración colocando las placas a trasluz.

2.6. Métodos de análisis estadísticos

El análisis estadístico a realizarse comprendió estadística descriptiva de los grupos de datos y las pruebas de normalidad y homogeneidad de varianza, posteriormente se realizó una prueba de ANOVA y la comparación de grupos múltiples mediante la prueba de Tukey y la prueba de Chi-cuadrado de independencia para un grupo de datos aislados, las pruebas se realizaron con nivel de significancia alfa de 0.05^{19,20}.

2.7 Aspectos éticos

En consideración al tipo de investigación se tomó en cuenta el aspecto bioético de no maleficencia.

Principio de no maleficencia

Mediante este principio cuidó de no producir daño o disminuirlo bajo cualquier circunstancia, en tal sentido todo material bio-contaminado fue previamente esterilizado como norma de bioseguridad^{21,22}.

III. RESULTADOS

Tabla 1. Estadística descriptiva para los distintos tratamientos del extracto metanólico de *Justicia secunda* “Insulina” frente a *Cándida albicans*

Descriptives

Tamaño del halo de inhibición	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Extracto Metanólico al 50% - Justicia secunda	30	6,07	0,13	0,02	6,02	6,12	6,00	6,40
Extracto Metanólico al 75% - Justicia secunda	30	9,52	0,33	0,06	9,40	9,64	8,60	10,10
Extracto Metanólico al 100% - Justicia secunda	30	11,06	0,35	0,06	10,93	11,19	10,50	11,70

Fuente: Análisis obtenido mediante SPSS versión 26

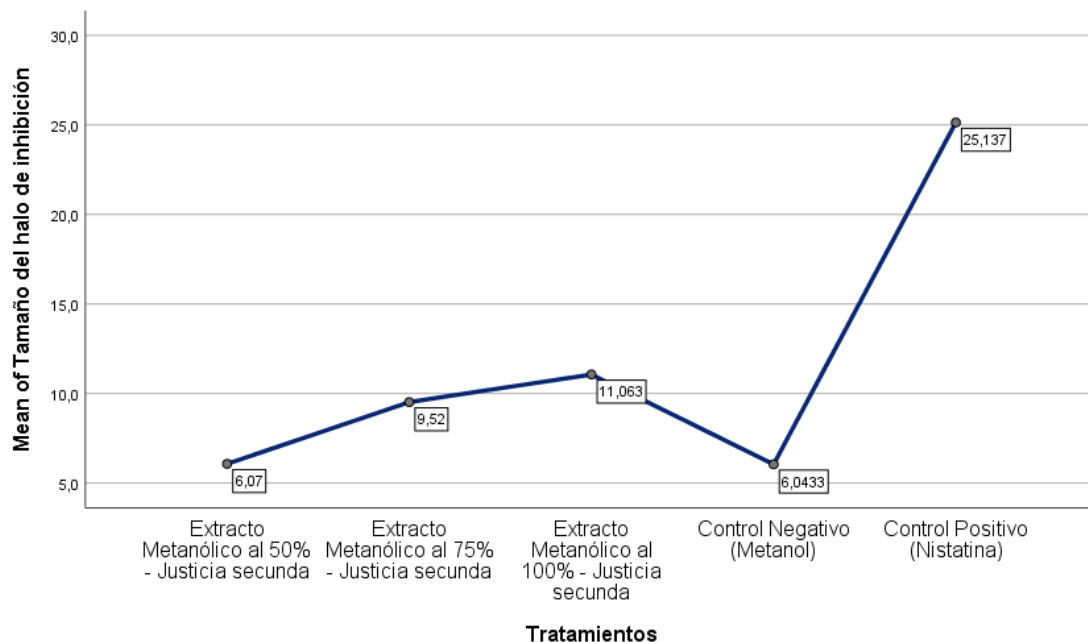
La tabla 1 nos muestra las medias, desviación estándar, error estándar, los intervalos para la media con un nivel de confianza del 95% y los valores máximo y mínimo obtenidos en la recolección de los datos del diámetro de inhibición formado por el extracto metanólico de *Justicia secunda* “Insulina” a diferentes concentraciones frente a *Candida albicans*. Para la concentración del 50% se observa un halo de inhibición de 6.07mm, similar al control negativo, pero las concentraciones de 75% y 100% presentan diámetros de halos de inhibición superiores con medias de 9.52mm y 11.06mm

Tabla 2. Estadística descriptiva para los tratamientos de los grupos control frente a *Cándida albicans*

Tamaño del halo de inhibición	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Control Negativo (Metanol)	30	6,04	0,09	0,02	6,01	6,08	6,00	6,30
Control Positivo (Nistatina)	30	25,14	0,35	0,06	25,01	25,27	24,60	25,80

Fuente: Análisis obtenido mediante SPSS versión 26

La tabla 2 nos muestra las medias, desviación estándar, error estándar, los intervalos para la media con un nivel de confianza del 95% y los valores máximo y mínimo obtenidos en la recolección de los datos del diámetro de inhibición formado por la Nistatina (control positivo) con una media de 25.14 y metanol (control negativo) con una media de 6.04 frente a *Candida albicans*.



Fuente: Análisis obtenido mediante SPSS versión 26

Figura 1. Comportamiento del tamaño del halo de inhibición formados por los tratamientos frente a *Candida albicans*

La figura1 muestra el comportamiento de los tratamientos del extracto metanólico de *Justicia secunda* “Insulina” a diferentes concentraciones y de los controles frente a *Candida albicans* en función del diámetro de inhibición. Se observa un comportamiento similar entre el control negativo y el extracto metanólico de *Justicia secunda* “Insulina” al 50% y existe una diferencia significativa entre la media del control positivo (nistatina) y los demás extractos.

Tabla 3. Prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov corregida por Lilliefors para cada tratamiento

	Tratamientos	Kolmogorov-Smirnov ^a		
		Statistic	df	p-valor.
Tamaño del halo de inhibición	Extracto Metanólico al 50% - Justicia secunda	0,44	30,00	0,00
	Extracto Metanólico al 75% - Justicia secunda	0,14	30,00	0,12
	Extracto Metanólico al 100% - Justicia secunda	0,11	30,00	0,20*
	Control Negativo (Metanol)	0,48	30,00	0,00
	Control Positivo (Nistatina)	0,11	30,00	0,200*

*. This is a lower bound of the true significance. *

a. Lilliefors Significance Correction^a

Fuente: Análisis obtenido mediante SPSS versión 26

H₁: El grupo de datos analizados no presentan una distribución normal. Para un p-valor < 0.05

H₀: El grupo de datos analizados presenta una distribución normal. Para un p-valor > 0.05

La tabla 3 presenta el análisis realizado a cada grupo de datos para la determinación de su distribución normal mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov corregida por Lilliefors, se observa p-valor < 0.05 en los tratamientos del extracto metanólico al 50% de *Justicia secunda* y el control negativo, así mismo, los datos de los tratamientos del extracto metanólico al 75% y 100% de *Justicia secunda* y el control positivo presentaron p-valor > 0.05. Por lo tanto, podemos afirmar con un nivel de confianza del 95% que el grupo control negativo y extracto metanólico al 50% de *Justicia secunda* no presentan distribución normal, sin embargo, el grupo control positivo y los extractos metanólicos al 75% y 100% de *Justicia secunda* si presentan distribución normal.

Tabla 4. Prueba de homogeneidad de varianzas por grupos

		Test of Homogeneity of Variances			
		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Tamaño del halo de inhibición	Based on Mean	0,242	2	87	0,785
	Based on Median	0,163	2	87	0,850
	Based on Median and with adjusted df	0,163	2	86,797	0,850
	Based on trimmed mean	0,236	2	87	0,790

Fuente: Análisis obtenido mediante SPSS versión 26

H_1 : Los datos analizados no presentan varianzas homogéneas. Para un p-valor < 0.05

H_0 : Los datos analizados presentan varianzas homogéneas. Para un p-valor > 0.05

La tabla 4 se muestra el análisis para determinación de varianzas homogéneas entre los grupos empleando la prueba estadística de Levene o de homogeneidad de varianzas, para tal fin, no se consideró el grupo control negativo y extracto metanólico al 50% de Justicia *secunda* por no presentar distribución normal. Se observa un p-valor basado en la media de 0.785 el cual es superior al $\alpha = 0.05$, por lo tanto, se rechaza la H_1 y acepta la H_0 : Los datos analizados presentan varianzas homogéneas

Tabla 5. Análisis de la varianza para las variables de estudio

ANOVA					
Tamaño del halo de inhibición					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	p-valor
Between Groups	4443,209	2	2221,604	19009,859	0,000
Within Groups	10,167	87	0,117		
Total	4453,376	89			

Fuente: Análisis obtenido mediante SPSS versión 26

H_1 : Existe diferencia significativa en la media de al menos un grupo de datos analizados. Para un p-valor < 0.05

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

Para un p-valor > 0.05

La tabla 5 muestra el análisis de la varianza (ANOVA) realizado para los grupos de datos donde se observa un valor p inferior al nivel de significancia $\alpha = 0.05$, por lo tanto, se rechaza la H₀ y acepta H₁: Existe diferencia significativa en la media de al menos un grupo de datos analizados.

Nota: No se considera el tratamiento con el control negativo y el extracto metanólico al 50% de *Justicia secunda*.

Tabla 6. Comparaciones múltiples de las medias mediante prueba de Tukey

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Tamaño del halo de inhibición

Tukey HSD

(I) Tratamientos	(J) Tratamientos	Mean Difference (I-J)	Std. Error	p-valor	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Extracto Metanólico al 75% - Justicia secunda	Extracto Metanólico al 100% - Justicia secunda	-1,5433*	0,088	0,00	-1,754	-1,333
	Control Positivo (Nistatina)	-15,6167*	0,088	0,00	-15,827	-15,406
Extracto Metanólico al 100% - Justicia secunda	Extracto Metanólico al 75% - Justicia secunda	1,5433*	0,088	0,00	1,333	1,754
	Control Positivo (Nistatina)	-14,0733*	0,088	0,00	-14,284	-13,863
Control Positivo (Nistatina)	Extracto Metanólico al 75% - Justicia secunda	15,6167*	0,088	0,00	15,406	15,827
	Extracto Metanólico al 100% - Justicia secunda	14,0733*	0,088	0,00	13,863	14,284

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Fuente: Análisis obtenido mediante SPSS versión 26

La tabla 6 se presenta el análisis de la prueba de Tukey para los datos de los tratamientos del extracto metanólico al 75% y 100% de *Justicia secunda*, así como del control positivo (nistatina). El p-valor menor al nivel de significancia alfa nos indica que existe diferencia

significativa entre las medias comparadas por parejas, en tal sentido, todos los tratamientos incluyendo al control positivo presenten diferencias significativas en sus medias.

Tabla 7. Análisis por sub grupos homogéneos

Tamaño del halo de inhibición

Tukey HSD^a

Tratamientos	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Extracto Metanólico al 75% - Justicia secunda	30	9,520		
Extracto Metanólico al 100% - Justicia secunda	30		11,063	
Control Positivo (Nistatina)	30			25,137
Sig.		1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 30,000.

Fuente: Análisis obtenido mediante SPSS versión 26

La tabla 7 presenta el análisis de las comparaciones múltiples por pareja de tratamientos por sub grupos, no existe evidencia significativa de comportamientos similares en los tratamientos a diferentes concentraciones del extracto metanólico de *Justicia secunda*, tampoco se puede afirmar la existencia de un tratamiento similar al control positivo.

Tabla 8. Análisis mediante Chi-cuadrado para el control negativo y el extracto metanólico al 50% de *Justicia secunda*

Tamaño del halo de inhibición * Tratamientos Crosstabulation

		Tratamientos		Total	
		Extracto Metanólico al 50% - Justicia secunda	Control Negativo (Metanol)		
Tamaño del halo de inhibición	6,0	Count	22	24	46
		Expected Count	23,0	23,0	46,0
		% of Total	36,7%	40,0%	76,7%
	6,1	Count	1	1	2
		Expected Count	1,0	1,0	2,0
		% of Total	1,7%	1,7%	3,3%
	6,2	Count	3	3	6
		Expected Count	3,0	3,0	6,0
		% of Total	5,0%	5,0%	10,0%
	6,3	Count	2	2	4
		Expected Count	2,0	2,0	4,0
		% of Total	3,3%	3,3%	6,7%
6,4	Count	2	0	2	
	Expected Count	1,0	1,0	2,0	
	% of Total	3,3%	0,0%	3,3%	
Total	Count	30	30	60	
	Expected Count	30,0	30,0	60,0	
	% of Total	50,0%	50,0%	100,0%	

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymptotic p-valor (2-sided)
Pearson Chi-Square	2,087 ^a	4	0,720
Likelihood Ratio	2,860	4	0,582
Linear-by-Linear Association	,842	1	0,359
N of Valid Cases	60		

a. 8 cells (80,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 1,00.

Fuente: Análisis obtenido mediante SPSS versión 26

H_1 : Existe diferente comportamiento entre los grupos de datos analizados. Para un p-valor < 0.05

H_0 : Existe un comportamiento similar entre los grupos de datos analizados. Para un p-valor > 0.05

La tabla 8 muestra la comparación del comportamiento de los tratamientos del extracto metanólico al 50% de *Justicia secunda* y control negativo mediante la prueba de Chi-cuadrado, se observa un 0.72 superior al nivel de significancia establecido en el estudio, por lo tanto, se rechaza H_1 y acepta H_0 : Existe un comportamiento similar entre los grupos de datos analizados.

IV. DISCUSIÓN

4.1. Discusión

La tabla 1 muestra los valores medios obtenidos del tratamiento con el extracto metanólico de Justicia secunda "*Insulina*" frente a *Candida albicans*, se obtuvo halos de inhibición promedio de 6,07mm para el extracto al 50%, 9.52mm para el extracto al 75% y 11,06% para el extracto al 100%, con desviaciones de 0.13, 0.33 y 0.35 respectivamente. Se observa un leve incremento del efecto antimicótico del extracto metanólico al incrementarse su concentración.

Por otro lado, la tabla 2 nos muestra el halo de inhibición promedio obtenido al exponer los controles negativo (metanol) y positivo (nistatina) sobre cultivos de *Candida albicans*, el control negativo mostro un halo de inhibición promedio de 6.04mm y el control positivo fue de 25.14mm. Se observa una gran diferencia entre el diámetro del control positivo y los demás grupos de tratamientos.

La gráfica de medias observada en la figura 1 nos permite visualizar de mejor manera el comportamiento del efecto antimicótico de los tratamientos a base del extracto metanólico de Justicia secunda "*Insulina*" y los controles frente a *Candida albicans*, se observa un efecto leve basado en el tamaño del halo de inhibición de los extractos el cual puede depender de muchos factores como método de extracción, tiempo de maceración, fitoconstituyentes de la planta, entre otros.

En la tabla 3 se realiza el análisis del comportamiento normal de la distribución de los datos mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov, así mismo, en la tabla 4 se realiza la prueba de homogeneidad de varianzas o prueba de Levene, ambas pruebas necesarias para aplicar posteriormente la prueba paramétrica de ANOVA y Tukey.

En la tabla 5 se observa la aplicación de la prueba de ANOVA a los grupos de datos excepto los del control negativo y el tratamiento al 50% por no cumplir la distribución normal de los datos, el ANOVA muestra que existe diferencia significativa en la media de al menos un grupo de datos, por lo que se realiza la prueba de Tukey como se muestra en la tabla 6 para realizar las comparaciones de los 3 grupos de tratamientos,

control positivo, extracto metanólico al 75% y 100%, esta prueba demuestra que existe diferencia significativa en todos los grupos de tratamientos, este resultado se confirma con el análisis por sub grupos homogéneos mostrados en la tabla 7.

Para demostrar la existencia de diferencia significativa entre el control negativo y el tratamiento con el extracto metanólico al 50% se analizaron estos datos mediante la prueba no paramétrica de Chi-Cuadrado para datos independientes, dicho análisis se muestra en la tabla 8, el p-valor de 0.72 nos demuestra que el efecto antimicótico del extracto metanólico al 50% de *Justicia secunda* "Insulina" frente a *Candida albicans*, es similar al efecto del control negativo, en tal sentido, no se logró demostrar efecto antimicótico de este extracto a dicha concentración sobre *Candida albicans*.

Se observa la presencia de un efecto leve contra *Cándida albicans* en el extracto metanólico de *Justicia secunda* "Insulina". Abiodun et al (2020) realizó un estudio similar con esta misma planta empleando 3 tipos de extractos, etanólico, metanólico y acuoso. Las hojas fueron secadas a temperatura ambiente por 30 días y luego pulverizadas para obtener los extractos, se observó actividad antibacteriana, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomona aeruginosa*, *Bacilus cereus* y *Listeria monocytogenes*, los extractos acuosos y metanólicos no demostrando actividad antimicrobiana sobre *Escherichia coli* pero el etanólico sí. El mismo estudio determinó la presencia de saponinas, taninos, flavonoides, glúcidos cardiotónicos, terpenoides, esteroides, antraquinonas y alcaloides en el extracto metanólico. Los diámetros de inhibición formados en los extractos metanólicos de la planta fueron de 12.0 ± 0.01 , 12.5 ± 0.0 , 10.0 ± 0.01 , 9.0 ± 0.01 para *Bacilus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* y *Pseudomona aeruginosa*, estos valores obtenidos son similares en tamaño a los observados en nuestro estudio contra *Candida albicans* no que demostraría la misma efectividad en bacterias como en hongos.

Por otro lado, un estudio más profundo sobre las propiedades del género de esta planta fue el recopilado por Kitadi J. et al (2019), de varias bases de datos electrónicas donde llegó a la conclusión que esta planta posee importantes compuestos fitoquímicos como fenoles, flavonoides, alcaloides, terpenos, taninos, glucósidos, saponinas, cumarinas, saponinas, aminoácidos, amins aromáticas, estigmasterol y lupeol. Los lignanos también

presentes muestran actividad antiangiogénico, antileishmanial, antifúngico, hipolipidémico, cardiotónico, antidepresivo, actividad analgésica, hepatoprotectora, antiagregante plaquetario, antiasmático, antiviral, antineoplástico, insecticida y antiinflamatorio. La investigación también mostró que *Justicia gendarussa* contenía el nivel más alto de concentración de zinc (Zn) de 0.03 mg / kg, así también se ha demostrado actividad antibacteriana en el 8% de los extractos. *Justicia pectoralis* mostró una alta actividad antibacteriana contra *E. coli*, *E. faecalis* y *S. epidermidi*.

Un estudio realizado por Sousa T. et al (2018) con extractos acuosos y orgánicos (acetona) de *Justicia pectoralis* sobre cepas de *A. baumannii* y *K. pneumoniae* logro determinar la actividad antibacteriana de esta planta por el método de microdilución, el estudio fitoquímico determinó cumarinas, flavonoides, apigenina y ácido elágico en ambos extractos y se demostró actividad de esta planta contra *Acinetobacter baumannii* y *Klebsiella pneumoniae*.

Además de las propiedades antibacterianas de *Justicia secunda* Vahl, Onoja S. et al (2017) evaluó las propiedades antioxidantes, antinociceptivas y antiinflamatorias in vitro del extracto metanólico de las hojas de *Justicia secunda* Vahl en modelos de edema en pata de ratón inducido por carragenina y formalina, el estudio luego del trabajo logró demostrar las propiedades antiinflamatorias, antinociceptivas y antioxidantes de la planta.

Existe evidencia médica que respalda el uso de esta planta debido a sus metabolitos secundarios que presenta el género de esta especie que la hacen una potencial fuente de investigación y de recurso farmacoterapéutico en el tratamiento de muchas enfermedades e infecciones, además de la seguridad en su uso se debe considerar el factor económico ya que crece como una planta silvestre y en algunos lugares de la zona es cultivado como planta ornamental.

4.2. Conclusiones

- Se determinó la actividad antimicótica del extracto metanólico de *Justicia secunda* frente a *Candida albicans* a las concentraciones de 75% y 100% mediante la técnica de difusión en disco con halos de inhibición de 9.52mm y 11.06mm.
- La concentración del 50% del extracto metanólico de *Justicia secunda* no mostró actividad antimicótica, la prueba Chi-cuadrado confirmó que el extracto metanólico al 50%. no presenta diferencia significativa con el control negativo.
- El extracto metanólico de *Justicia secunda* presentó menor actividad antimicótica a todas sus concentraciones que el control positivo, la prueba de Tukey para comparación de grupos múltiples permitió determinar la diferencia significativa entre los grupos de datos del extracto metanólico de *Justicia secunda* al 75%, 100% y control positivo.

4.3. Recomendaciones

- Se requiere estudios de mayor impacto sobre esta planta debido a que a nivel nacional no existen casi estudios de demuestren su actividad antimicrobiana o clínica.
- Se necesita comparar los beneficios de esta planta mediante diferentes técnicas de extracción que permitan mejorar su eficacia.
- Se debe difundir el uso y cultivo de esta planta en la zona, debido a que su obtención es difícil y escasa.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Allen, Janda. Koneman- Diagnóstico microbiológico. 6ta. ed. Washington W, editor. Madrid - España: Editorial Médica Panamericana; 2006.
2. Organización Mundial de la Salud. Un informe de las Naciones Unidas destaca la falta de acceso a medicamentos esenciales [Internet]. WHO. World Health Organization; 2016 [citado 26 de agosto de 2019]. Disponible en: <https://www.who.int/medicines/mdg/es/>
3. DIGEMID. DIGEMID (Dirección General de Medicamentos Insumos y Drogas) [Internet]. Ministerio de Salud del Perú. [citado 25 de agosto de 2020]. Disponible en: <http://www.digemid.minsa.gob.pe/Main.asp?Seccion=39>
4. Nuñez M. PERÚ: PROVISIÓN DE MEDICAMENTOS EN EL SISTEMA DE SALUD [Internet]. 2015 [citado 26 de agosto de 2019]. Disponible en: <http://www.congreso.gob.pe/dgp/didp/inicio.htm>
5. Plan Operativo Institucional - Gobierno Regional de Lambayeque. D.R. N° 022-2017-GR.LAMB/PR Lambayeque: Hospital Regional Lambayeque - Gerencia Regional de Salud; 2018.
6. Ministerio de Salud. Lineamientos de Política de Sectorial en salud mental. [Internet]. Perú; 2018 [citado 27 de agosto de 2019]. Disponible en: <http://www.minsa.gob.pe>
7. Mora Zambrano P, Bustamante Pesantes KE. Caracterización y estudio fitoquímico de Justicia secunda valh (Sanguinaria , Singamochilla , Insulina) Characterization and phytochemical study of Justicia secunda. Rev Cuba Plantas Med [Internet]. 2017;22(1):1-8. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962017000100016
8. Onoja SO, Ezeja MI, Omeh YN, Onwukwe BC. Antioxidant, anti-inflammatory and antinociceptive activities of methanolic extract of Justicia secunda Vahl leaf . Alexandria J Med [Internet]. 2017;53(3):207-13. Disponible en:

<http://dx.doi.org/10.1016/j.ajme.2016.06.001>

9. Corr3a GM, Alc3ntara AFDC. Chemical constituents and biological activities of species of Justicia. Rev Bras Farmacogn Braz J Pharmacogn. 2016;22(May 2015):220-38.
10. Olea Delfina. Presencia de Candida albicans y su relaci3n con los valores de CD4+ en pacientes con infecci3n por VIH. Universidad de Granada; 2016.
11. Bustamante Melo S. Actividad antimic3tica de Tagedes Filifolia (Anisillo) frente a Candida albicans. [Internet]. Universidad Alas Peruanas; 2018 [citado 29 de agosto de 2019]. Disponible en:
[http://repositorio.uap.edu.pe/bitstream/uap/8301/1/BUSTAMANTE MELO_SANDRA_resumen.pdf](http://repositorio.uap.edu.pe/bitstream/uap/8301/1/BUSTAMANTE_MELO_SANDRA_resumen.pdf)
12. Ayodele AE, Odusole OI, Adekanmbi AO. Phytochemical screening and in-vitro antibacterial activity of leaf extracts of Justicia secunda Vahl on selected clinical pathogens. 2020;8(Mic):46-54.
13. Mpiana PT, Kitadi JM. Justicia secunda Vahl species : Phytochemistry, Pharmacology and Future Directions : a mini-review. Discov Phytomedicine. 2019;6(4):157-71.
14. Nunes TRDS, Cordeiro MF, Beserra FG, Souza ML De, Silva WAV Da, Ferreira MRA, et al. Organic Extract of Justicia pectoralis Jacq. Leaf Inhibits Interferon- γ Secretion and Has Bacteriostatic Activity against Acinetobacter baumannii and Klebsiella pneumoniae. Evidence-based Complement Altern Med. 2018;2018.
15. Hern3ndez Sampieri R. Metodolog3a de la Investigaci3n. 6ta edici3n. M3xico,D.F.: Mc Graw Hill; 2014.
16. Grove S, Gray J. Investigaci3n en Enfermer3a: Desarrollo de la pr3ctica enfermera basada en evidencia. 7ma ed. Barcelona - Espa1a: Elsevier; 2019. 487 p.
17. Gilman, Goodman. Terap3utica, Las bases farmacol3gicas de la Terap3utica.

12ed ed. Laurence L B, editor. Laurence Brunton. México: McGraw-Hill/Interamericana; 2014.

18. Rojas N, Chaves E, García F. Bacteriología diagnóstica. Universidad de Costa Rica. Costa Rica: Facultad de Microbiología; 2015.
19. Kuehl R. Diseño de Experimentos. Vol. 43, Technometrics. 2016. 236-237 p.
20. Jorge Dagnino S. Comparaciones múltiples. Rev Chil Anest. 2016;43(4):311-2.
21. MINSA/DIGESA. Norma Técnica de Salud : " Gestión y Manejo de Residuos Sólidos en Establecimientos de Salud y Servicios Médicos de Apoyo a nivel Nacional " Documento en proyecto-No citar , No reproducir-TSC. Norma Tec Salud N° N° 096- MINSA/DIGESA-V01. 2010;1:63.
22. OMS. Limpieza y desinfección de las superficies del entorno inmediato en el marco de la COVID-19. Organ Mund la salud [Internet]. 2020;1-3. Disponible en: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/332168/WHO-2019-nCoV-Disinfection-2020.1-spa.pdf>

ANEXOS

Anexo A: Operacionalización de las variables

VARIABLE INDEPENDIENTE	DIMENSIONES	TIPO	ESCALA	INDICADORES	UNIDAD DE MEDIDA/PUNTO DE CORTE
Extracto metanólico de Justicia secunda Vahl. "Planta de insulina"	Concentración	Cuantitativo	Ordinal	100%	Porcentaje
				75%	
				50%	
				Ausencia	
VARIABLE DEPENDIENTE	DIMENSIONES	TIPO	ESCALA	INDICADORES	UNIDAD DE MEDIDA/PUNTO DE CORTE
Efecto antimicótico frente a <i>Candida albicans</i>	Halo de inhibición	Cuantitativo	Ordinal	Diámetro	milímetros

Anexo B: Instrumento de recolección de datos

Diámetro de los halos de inhibición producidos por el extracto metanólico de las hojas de Justicia secunda Vahl (Planta de insulina) sobre cepas de *Cándida albicans* ATCC

Placa	Extracto Metanólico			Controles	
	50% (mm)	75% (mm)	100% (mm)	Negativo (mm)	Positivo (mm)
1	6,0	9,5	10,5	6,0	24,9
2	6,0	9,2	10,9	6,0	25,7
3	6,0	9,6	11,2	6,0	25,0
4	6,0	9,6	10,5	6,0	25,5
5	6,2	9,8	11,7	6,0	25,1
6	6,0	9,6	10,8	6,0	24,6
7	6,0	9,1	11,3	6,0	25,6
8	6,0	9,6	11,3	6,3	25,1
9	6,3	9,9	11,6	6,0	25,6
10	6,0	9,0	10,8	6,0	24,9
11	6,0	9,5	10,6	6,1	24,7
12	6,0	10,0	11,1	6,0	25,3
13	6,4	9,4	10,9	6,0	25,0
14	6,0	9,5	11,6	6,0	25,3
15	6,0	9,6	11,6	6,2	25,7
16	6,0	10,1	10,5	6,0	25,5
17	6,2	9,6	11,1	6,0	25,2
18	6,0	9,3	11,5	6,0	25,3
19	6,0	9,3	11,2	6,0	24,7
20	6,0	9,9	11,2	6,0	25,2
21	6,3	9,3	11,0	6,2	24,8
22	6,0	9,8	11,1	6,0	25,1
23	6,0	9,8	10,9	6,0	25,1
24	6,1	8,6	10,5	6,0	25,0
25	6,0	9,5	11,1	6,2	25,3
26	6,0	9,0	11,0	6,0	24,9
27	6,4	9,9	10,8	6,0	25,8
28	6,0	9,4	11,1	6,0	24,6
29	6,0	9,7	11,1	6,0	24,6
30	6,2	9,5	11,4	6,3	25,0

Anexo C: Clasificación taxonómica

"Año de la Universalización de la Salud"

CONSTANCIA DE IDENTIFICACIÓN TAXONÓMICA

La Bióloga Flor Milagros Silva Romero con colegiatura del Colegio de Biólogos del Perú Nro. 6238 deja constancia que:

La muestra botánica recibida de los bachilleres Lucero del Rocío Meza Nauca y Christiam Joel Becerra Jiménez, quienes realizan una investigación en la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad María Auxiliadora – San Juan de Lurigancho; ha sido estudiada e identificada como: *Justicia secunda Vahl (Insulina)* y tiene la siguiente posición taxonómica según el sistema de clasificación APG III (Angiosperm Phylogeny Group).

Clase: Equisetopsida
Orden: Lamiales
Familia: Lamiaceae Juss.
Género: *Justicia* L.
Especie: *Justicia secunda* Vahl

Nombre vulgar: "Insulina"

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

Lambayeque, 20 de octubre del 2020




Flor Milagros Silva Romero
Bigo. Flor Silva Romero
C.B.P. 6238

Anexo D. Certificado de análisis de la cepa *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: 2021/2/28 Release Information: Quality Control Technologist: Alexandra D Stensvad Release Date: 2019/3/18
---	---

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

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

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

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

Individual products are traceable to a recognized outure collection.



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

(1) These tests are accredited to ISO/IEC 17025:2005.



Bruker Daltonik MALDI Biotyper Classification Results



Meaning of Score Values

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

Meaning of Consistency Categories (A - C)

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

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

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

Comments:

n/a

Anexo E. Evidencias de trabajo de campo



Figura 3. Justicia secunda (planta de insulina) en zona de cultivo



Figura 2. Recolección de la muestra



Figura 4. Secado de la muestra

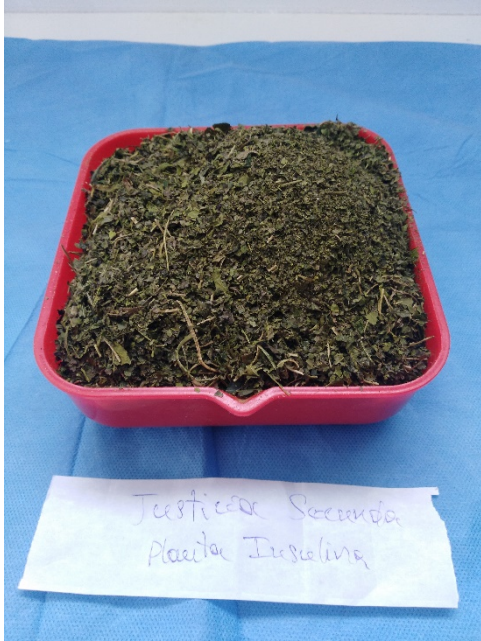


Figura 6. Triturado de la muestra



Figura 5. Acondicionamiento en papel Kraft para secado de la muestra



Figura 7. Secado en estufa de hojas de la planta de insulina



Figura 8. Pulverización de la muestra



Figura 9. Tamizaje de la muestra vegetal



Figura 10. Preparación y maceración de los extractos



Figura 11. Filtrado del extracto metanólico

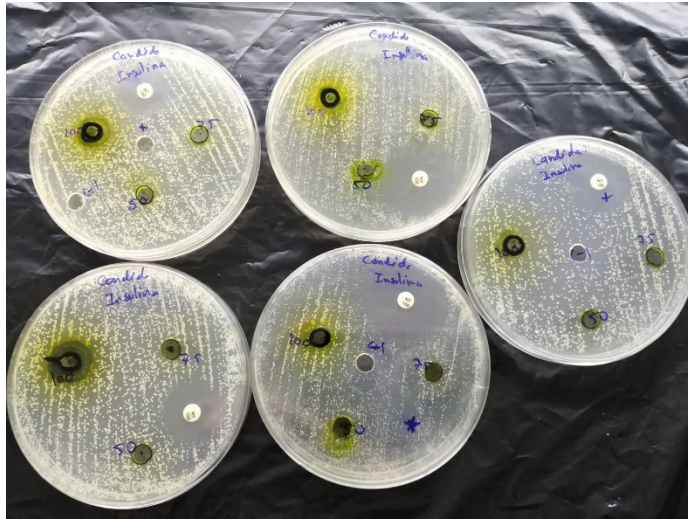


Figura 12. Lectura de los halos de inhibición