



FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

**EFECTO ANTIMICÓTICO IN VITRO DEL EXTRACTO  
HIDROALCOHÓLICO DE LAS HOJAS DE *Hamelia patens*  
Jacq. (arco sacha) FRENTE A LA CEPA DE *Candida*  
*albicans***

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

**AUTORES:**

**Bach. CABALLERO MONGE, MILUSCA**  
<https://orcid.org/0000-0002-7549-7256>

**Bach. MEZA LOPEZ, NANCY**  
<https://orcid.org/0000-0003-3794-0082>

**ASESOR:**

**Dr. VILCHEZ CÁCEDA, HECTOR ALEXANDER**  
0000-0001-7094-0821

**LIMA – PERÚ**

**2022**



## **DEDICATORIA**

A mi Padre Augusto y Madre Paula, pilar fundamental de mi formación en valores, principios e integridad como persona, por enseñarme la perseverancia y por su apoyo incondicional en todo momento hasta la actualidad.

A mi esposo Pepe e hijos: Josué y Andrea por ser fuente de inspiración que siempre estuvieron motivándome y apoyando a lo largo de este proyecto a pesar de muchos sacrificios y momentos difíciles que logramos superar, ejemplo que ahora soy para ellos.

A mis tías Emilia y Enriqueta por brindarme su constante estímulo y ánimo para que siguiera adelante y aunque lejos siempre estuvieron conmigo.

A mis cinco queridos hermanos por sus palabras de aliento en todo momento.

A Daysi, Katuska, Pepe, Jair y Milagros; parientes y amigos muy queridos que estuvieron a lo largo de este camino y fueron gran incentivo para llegar a mi meta.

Gracias a todos por creer en mi capacidad y lograr que este sueño sea realidad.

CABALLERO MONGE, MILUSCA

A mis padres: Mi mamá María Angélica por darme la vida, por su comprensión, cariño y guía, a mi papá Juan Tito como un homenaje póstumo, aunque ya no estés conmigo desde allí arriba estarás muy orgulloso de mi, por haber sido muy comprensivo y bondadoso conmigo a quien dedico este trabajo, aunque ya no pude demostrarte que logré graduarme con éxito, mil gracias papa.

A mi hijo Renzo gracias a Dios por tenerte, a mis hermanos y a todos mis familiares que siempre me tienen presente y confían en mí, gracias por todos sus apoyos incondicionales.

A un gran amigo Dr. Juan de Dios Ángeles, fuiste un gran guía en mi vida, unos años maravillosos a su lado, un gran abrazo de agradecimiento hasta el cielo.

MEZA LOPEZ, NANCY

## **AGRADECIMIENTO**

### **Gracias Dios mío por:**

Permitirnos llegar a nuestra meta y culminar con éxito esta etapa de nuestra vida.  
Por haberme puesto de compañera de equipo a una mujer dedicada, entregada y de lucha constante.

A la Universidad María Auxiliadora “UMA” por habernos acogido en momentos difíciles.

Por poner en nuestro camino de asesor a una persona de gran paciencia, voluntad, dedicación y profesionalismo, muchas gracias Dr. Héctor A. Vílchez Caceda quien compartió con nosotros sus sabios conocimientos sin ningún tipo de egoísmo y acompañarnos hasta culminar.

A nuestras compañeras y amigas por brindarnos su apoyo cuando más lo necesitábamos.

A nuestros padres, esposo e hijos y demás familiares por su motivación, comprensión, apoyo y empuje para culminar con éxito nuestra profesión.

Finalmente, a todas las personas que estuvieron en nuestro camino de una u otra forma nos brindaron su apoyo y su comprensión cuando lo necesitábamos.

Mil gracias a todos.

## Índice General

	<b>Páginas</b>
<b>Resumen</b>	viii
<b>Abstract</b>	ix
<b>I. INTRODUCCIÓN</b>	1
<b>II. MATERIALES Y MÉTODOS</b>	9
2.1 Enfoque y diseño de la investigación	9
2.2 Población, muestra y muestreo	9
2.3 Variables de investigación	10
2.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos	11
2.5 Proceso de recolección de datos	11
2.6 Métodos de análisis estadístico	15
2.7 Aspectos éticos	15
<b>III. RESULTADOS</b>	16
<b>IV. DISCUSIÓN</b>	21
4.1 Discusión de resultados	21
4.2 Conclusiones	22
4.3 Recomendaciones	22
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	23
<b>ANEXOS</b>	34

## Índice de Tablas

<b>Tabla 1.</b> Solubilidades del extracto hidroalcohólico desecado.	16
<b>Tabla 2.</b> Tamizaje fitoquímico.	16
<b>Tabla 3.</b> Resultado del análisis in vitro por el método Kirby-Bauer.	17
<b>Tabla 4.</b> Cuadro estadístico descriptivo.	17

## Índice de Figuras

<b>Figura 1.</b> Recolección de la especie vegetal	38
<b>Figura 2.</b> Selección, lavado y secado de las hojas de <i>Hamelia patens jacq</i> ( arco sachá).	39
<b>Figura 3.</b> Fragmentación de la droga vegetal seca a tamaños de partículas homogéneas.	40
<b>Figura 4.</b> Macerado.	41
<b>Figura 5.</b> Filtración del extracto hidroalcohólico.	42
<b>Figura 6.</b> Obtención del extracto seco.	43
Tamizaje fitoquímico e identificación de metabolitos secundarios.	44
<b>Figura 8.</b> Preparación del medio de cultivo.	45
<b>Figura 9.</b> Preparación del inóculo.	46
<b>Figura 10.</b> Inoculación de la cepa <i>Cándida albicans</i> ATCC 10230.	47
<b>Figura 11.</b> Preparación de los discos de sensibilidad e incubación de las placas.	48
<b>Figura 12.</b> Medición de los halos de inhibición.	49

## Índice de Anexos

<b>Anexo A.</b> Operacionalización de la variable	32
<b>Anexo B.</b> Instrumento de recolección de datos	33
<b>Anexo C.</b> Evidencias fotográficas del trabajo de campo	37



## RESUMEN

**Objetivo:** Evaluar el efecto antimicótico *in vitro* del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Hamelia patens Jacq.* (Arco sacha) frente a la cepa *Cándida albicans*.

**Métodos:** Para determinar la actividad antimicótica del presente estudio se utilizó el método Kirby-Bauer, en el ensayo microbiológico se usó el tamizaje fitoquímico fue mediante reacciones de coloración y precipitación el estudio es de diseño experimental y corte transversal. En el ensayo se requirió del uso de 05 repeticiones que tuvo los grupos experimentales de: a). extracto hidroalcohólico de *Hamelia patens jacq.* (arco sacha) de: 2,5 %; b) 0.5 %; c) 10%; d) 20 %; e) Fluconazol grupo control y f) Etanol control negativo.

**Resultado:** El extracto hidroalcohólico de las hojas de arco sacha reveló numerosa cantidad de alcaloides, seguido de antocianinas, saponinas y compuestos fenólicos, el ensayo microbiológico realizado por el método de Kirby-Bauer evidenció que el extracto hidroalcohólico de *Hamelia patens jacq.* Presentó moderada actividad antimicótica en las concentraciones de 10 % y 20 %.

**Conclusiones:** En esta evaluación del extracto hidroalcohólico *in vitro* de *Hamelia patens jacq.* (arco sacha), se confirma que a mayor concentración mejor efecto antifúngico sobre *Candida albicans*.

**Palabras claves:** *Hamelia patens jacq.*, extracto hidroalcohólico, *Candida albicans*.

## ABSTRACT

**Objective:** It was to evaluate the in vitro antifungal effect of the hydroalcoholic extract of *Hamelia patens Jacq.* (Arco sachá) against the *Candida albicans* strain.

**Methods:** To determine the antifungal activity of the present study, the Kirby-Bauer method was used, in the microbiological test, phytochemical screening was used by means of coloration and precipitation reactions, the study is of experimental design and cross section. The test required the use of 05 repetitions that had the experimental groups of: a). Hydroalcoholic extract of *Hamelia patens jacq.* (arco sachá) a) 2,5 %; b). 0.5 %; c). 10 %; d). 20 %; e). Fluconazole control group and f). Negative control of ethanol.

**Results:** The hydroalcoholic extract of the leaves of Arco Sachá revealed a large amount of alkaloids, followed by anthocyanins, saponins and phenolic compounds, the microbiological test carried out by the Kirby-Bauer method showed that the hydroalcoholic extract of *Hamelia patens jacq.* It presented moderate antifungal activity at concentrations of 10% and 20%.

**Conclusions:** In this evaluation of the in vitro hydroalcoholic extract of *Hamelia patens jacq.* (arco sachá), it is confirmed that the higher the concentration, the better the antifungal effect on *Candida albicans*.

**key words:** *Hamelia patens jacq.*, antifungal hydroalcoholic extract, *Candida albicans*.

## I. INTRODUCCIÓN

Las infecciones causadas por hongos conocidos como micosis están propagadas por todo el mundo afectando a la humanidad, entre ellas el género *Cándida*. *Cándida albicans* es el hongo más común agrediendo generalmente a un sistema inmune debilitado, originando infección por candidiasis, estos microorganismos afectan tres grupos principales de nuestro organismo entre ellos, cutánea (piel, uñas de pies y manos ), mucosas (orofaríngeas, esofágicas y vulvovaginitis) y sistémicas (infecciones del torrente sanguíneo) ciertas factores predisponen a estas infecciones como la humedad excesiva y prolongada, calor, maceración, hábitos higiénicos, consumo prolongado de antibióticos de amplio espectro etc. afectando a todos los grupos de edad sin distinguir sexo, raza o condición social <sup>(1,2)</sup>.

La Organización Mundial de la Salud (OMS), indica que la incidencia de infecciones fúngicas superficiales representa del 20 % al 25 % de la población mundial, de los cuales el 5 % al 10 % es causada por hongos que afectan las uñas, piel y membranas mucosas <sup>3</sup>.

En el Perú un estudio realizado por el Laboratorio de Referencia Nacional de Micología del Instituto Nacional de Salud (INS) en tres hospitales de Lima y Callao (2013 - 2015), señaló como causante de candidemia a las especies *Cándida* no *albicans* 71,9 % y la especie *Candida albicans* con el 27,8 % de las cuales se encontró resistentes al Fluconazol (2,6 %) y sensibles al Fluconazol (10,1 %) y algunos aislados susceptibles a anidulafungina y anfotericina B <sup>4</sup>.

Durante milenios la fitoterapia ha sido el soporte de la salud, la misma que hasta nuestros días se viene practicando para aliviar los males de la humanidad <sup>5</sup>.

En el Perú encontramos gran variedad de climas, característica que favorece a la diversidad de recursos vegetales que poseemos y según la historia los pobladores de la selva utilizaron raíces, tallos, hojas, flores, frutos, resinas, etc. para curar, tratar y prevenir enfermedades. Actualmente se reportan varios descubrimientos científicos para la humanidad que confirman el inmenso poder curativo que tienen el universo de las plantas <sup>(6,7)</sup>.

La especie *Cándida albicans*, es un hongo que crece de dos formas desarrollándose en función de la temperatura para su crecimiento, como levadura, normalmente a 37 °C en el huésped y como hongo de aspecto filamentoso a 25 °C en la naturaleza, cuya división es la Ascomycota, su reproducción es asexual por gemación <sup>8</sup>.

Presentan una estructura de células ovaladas o redondas, agrupadas en diminutos grupos, en forma de levadura actúa como saprofita cohabitando con el hospedero mientras que, en la estructura de hongo filamentoso se alarga comportándose como parásito patógeno produciendo síntomas en el huésped aprovechándose de un sistema inmunitario deprimido y así convirtiéndose en microorganismos oportunistas originando enfermedades como la candidiasis <sup>9</sup>.

Aproximadamente hay 163 especies del género *Candida*, de estos, 10 son los causantes de la mayoría de las afecciones siendo la especie *Candida albicans* la más frecuente e importante, a esto se suma el surgimiento de resistencias a fármacos y un inminente desplazamiento de cepas sensibles por otras más resistentes debido al uso masivo de antifúngico como preventivo y terapéutico (10,11,12).

Existen diversos tipos de medicamentos antimicóticos como el fluconazol un fármaco de elección para el tratamiento a pacientes con micosis en especial infecciones producidas por *Candida albicans*. El estudio de tratamientos alternativos contra enfermedades como la micosis es posible combatirla con el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Hamelia patens Jacq.* (arco sacha) pero necesita mayor investigación científica para confirmar su uso, actualmente esta especie vegetal existe en la selva de Madre de Dios <sup>13</sup>.

Los seres humanos tenemos en forma habitual a la especie *candida albicans* en la flora intestinal, cavidad oral y flora vaginal en la mujer, que en su aspecto de levadura se conduce como saprofita conviven en mutualismo con el hospedero sano, en tanto la forma de hongo filamentoso se vuelve patógeno produciendo síntomas en el huésped inmunodeprimido, puede infectar piel, uñas e interdigitales de manos y pies, membranas y mucosas, afectando sobre todo a pacientes con trasplantes de órganos, enfermos con VIH-sida, con larga permanencia en cuidados intensivos, pacientes sometidos a cirugías extensas y que siguen una

terapia intensa de antibióticos de amplio espectro lo cual baja las defensas logrando que este hongo se multiplique con facilidad denominándose "patógeno oportunista" <sup>(14,15,16)</sup>.

La especie *Hamelia patens* Jacq. (arco sacha) se ha venido estudiando en las últimas décadas por científicos e investigadores en países como la India y Brasil continúan investigando los efectos farmacológicos de esta planta como alternativa para el tratamiento de la salud <sup>(17,18)</sup>.

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

- ❖ Como emplasto: para tratar micosis en los pies (pie de atleta), triturar las hojas frescas de *Hamelia patens* Jacq (arco sacha), y colocar en la zona afectada cubriéndolo con un paño <sup>19</sup>.
- ❖ Para las erupciones cutáneas: se utiliza el zumo de las hojas frescas <sup>19</sup>.
- ❖ En lavados vaginales: agua de cocción de hojas frescas o secas <sup>20</sup>.
- ❖ Para curar heridas y hongos por arcoíris: se utiliza el zumo de hojas frescas trituradas <sup>20</sup>.

El recurso vegetal en investigación contiene: compuestos químicos orgánicos entre ellos fenoles, taninos, flavonoides, saponinas <sup>21</sup>.

***Hamelia patens jacq.*** Arbusto que alcanza hasta 5 m de altura, perenne del continente americano de la familia Rubiaceas, de la especie *Hamelia patens jacq* en honor al autor francés de libros sobre árboles y arbustos Henri Louis du Hamel (1700 - 1781) descrito científicamente en 1760 y el nombre específico *patens*, que quiere decir extendido. Posee diversos nombres comunes como: bayetillo, Santa María, botellita, pata de venada, hierba tinta, pie de pájaro, coralillo, etc. y chichipince en el Salvador la cual es muy consumida. La forma tubular de la flor y su color desde anaranjado a rojo son cualidades que interesa mucho a sus polinizadores como los colibríes y las mariposas, el fruto de sabor ligeramente ácido, carnoso y globoso es atractivo para algunos pájaros, también consumido por los seres humanos y es usado en la producción de una bebida fermentada en México y El Salvador <sup>(22,23)</sup>.

El arco sacha se encuentra en diversos tipos de hábitat de preferencia en climas tropicales, en zonas conservadas y perturbadas. Se puede encontrar desde La Florida (EEUU), pasando por Centroamérica, Perú y hasta Argentina desde los 50 hasta 1800 m.s.n.m. Es un arbusto muy atractivo y se le adjudica propiedades medicinales, pero necesita mayor estudio científico para que estas sean comprobadas, sirve como antibacteriano, antimicótico, analgésico relajante, cicatrizante de heridas, se utiliza localmente para aliviar las molestias de comezón por picadura de moscos, acné, sarpullido, tratar reumas, golpes, erisipela, gastritis, disentería, fiebre, así también se consume como emoliente, para inflamación del estómago, detiene sangrados, inflamación de piernas, para tumores, úlcera, anemia etc. Las partes usadas de esta planta son las hojas, corteza, flores y frutos (22,23).

*Hamelia patens* es una especie incluso considerada maleza, usada como planta ornamental por la belleza y duración de sus flores. Éste se puede propagar por semilla o por estacas y se debe sembrar en un lugar abierto que reciba mucha luz.



**Figura 1: *Hamelia patens* jacq. (Arco sacha)**

Entre los antecedentes al desarrollo del trabajo de investigación se dispone los siguientes.

**Rodríguez B, et al (2017)**, valoraron la actividad antifúngica in vitro de *Uncaria tomentosa* (uña de gato) y *Eucaliptus globulus* (eucalipto) sobre *Candida* spp. en extractos etanolito y se reactivaron los cultivos de *Candida albicans* ATCC 10231 cuyos extractos y cultivos se compararon mediante la prueba de difusión en disco, con resultado positivo, finalizaron que el extracto etanolito de *Uncaria tomentosa* (uña de gato) y *Eucaliptos globulus* (eucalipto) presenta acción antifúngica, sobre *Cándida* sp<sup>24</sup>

**Milla A. (2018)**, determinó el efecto antimicótico in vitro del extracto de *Uncaria Tomentosa* (uña de gato), sobre la *Cándida albicans*, como resultado fue, que *Uncaria tomentosa* no muestra eficacia antifúngica contra cepas de *Candida albicans* in vitro, pues no mostró halo de inhibición<sup>25</sup>.

**Sahana B, et al (2018)**, analizaron la actividad antioxidante y antifúngica de *Geophila repens* (L.) I. M. Johnst. (Rubiaceae), en extracto de las hojas con maceración en etanol se logró la eliminación de radicales libres DPPH y la reducción férrica al aumentar la concentración del extracto. La actividad antifúngica del extracto de hoja se determinó mediante la técnica de alimentos envenenados. Concluyendo que el extracto de hoja posee principios bioactivos con actividad contra el daño oxidativo y los hongos transmitidos por las semillas que deben ser purificados y cribados para su actividad antioxidante y antifúngica <sup>26</sup>.

**Okoye E, et al (2016)**, analizaron la acción antimicrobiana de los extractos crudos de *Hamelia patens* de las hojas pulverizadas en aislados clínicos seleccionados, el resultado del análisis mostró que los extractos tienen diversos grados de actividad antimicrobiana que oscilaban entre 7 mm y 44 mm contra los aislamientos utilizados. Concluyeron que *Hamelia patens* ha demostrado una potente actividad antimicrobiana in vitro, por lo que puede servir como fuente de antimicrobianos para el tratamiento de infecciones causadas por los organismos utilizados en el estudio <sup>27</sup>.

**Umaiymbigai D, et al (2016)**, analizaron el perfil fitoquímico y actividad antifúngica de las hojas frescas de *Psydrax dicoccos* (Gaertn) Teys. y Binn. El estudio se realizó con el extracto metanólico de las hojas durante 8 horas, sometándose a análisis de espectroscopia infrarroja y cromatografía de gases-

espectroscopia de masas Concluyeron que la actividad antifúngica puede estar presente en ácido cinámico. El ácido del extracto de metanol de *P. dicoccos* es muy valioso en uso medicinal y tiene menos efectos secundarios <sup>28</sup>.

**Abubacker M, et al (2013)**, realizaron una búsqueda de “Potenciales antifúngicos in vitro de *Hamelia patens* Jacq. (Rubiaceae) en extractos acuosos de hojas, flores y frutos”, realizaron en cultivos de hongos, los resultados mostraron que el concentrado acuoso de polvo seco de la flor y la fruta de la hoja de *H. patens* tiene diferentes cualidades antimicóticas para las cuatro cepas fúngicas investigadas. Concluyeron que *Hamelia patens* es un antimicótico excelente para frenar la micosis patógena en vegetales y humanos seleccionados para este estudio <sup>29</sup>.

Nuestro Perú posee inmensa riqueza y gran diversidad de especies vegetales desde el tiempo de los incas hasta nuestros días, es así que en nuestra selva de Madre De Dios conocida como la capital de la Biodiversidad cuenta con infinidad de variedades vegetales, razón por cual la población siempre se valió de la utilización de estas plantas de manera empírica para prevenir, tratar y curar cualquier enfermedad <sup>30</sup>.

En el presente trabajo de investigación se consideró importante el estudio de la planta *Hamelia patens* Jacq (*arco sacha*), porque es muy utilizada y posee diversas propiedades curativas <sup>31</sup>.

La importancia en la demostración de la actividad antifúngica in vitro de plantas medicinales, utilizando los estudios propuestos, se justifica porque serian beneficiados los habitantes de zonas más vulnerables de nuestra región, que sufren de diferentes tipos de hongos endémicos permanente y desde siempre se respaldaron con estos hábitos ancestrales, además por la falta de médicos especialistas hasta la actualidad convirtiéndose este estudio en una alternativa terapéutica y al alcance económico <sup>(31,32)</sup>.



El objetivo general del estudio es Evaluar el efecto antimicótico *in vitro* del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Hamelia patens Jacq.* (Arco sacha) frente a la cepa *Candida albicans*.

La hipótesis general del estudio fue: El extracto Hidroalcohólico de las hojas de *Hamelia Patens Jacq.* (Arco sacha) tiene efecto antimicótico *in vitro* frente a cepas de *Candida albicans*.

## II. MATERIALES Y MÉTODOS

### 2.1 ENFOQUE Y DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

**Enfoque:** Cuantitativo <sup>33</sup>.

**Experimental:** Porque toda investigación experimental requiere manipulación de la variable independiente <sup>33</sup>.

**Explicativo:** Porque se busca comprobar la causa-efecto y responder a las preguntas de por qué y cómo influye la variable independiente sobre la variable dependiente <sup>34</sup>

**Transversal:** Porque para el desarrollo del estudio se recolectó la información en un determinado tiempo y una sola vez <sup>34</sup>.

### 2.2 POBLACIÓN, MUESTRA Y MUESTREO

La población fue constituida por seis kilogramos de hojas *Hamelia patens Jacq.* (arco sacha), de la localidad de El Triunfo distrito de Las Piedras provincia de Tambopata departamento de Madre de Dios localizado a una altura de 260 m.s.n.m.

La muestra estuvo constituida por 1 kilogramo de hojas secas de *Hamelia patens Jacq.* (Arco sacha).

El muestreo fue No aleatorizado y por conveniencia considerando la ubicación de las especies vegetales en la zona de recolección, respetando las técnicas botánicas de recolección de especies vegetales <sup>(35,36)</sup>.

Se seleccionaron las hojas que estaban en condición de sanos y libres de agentes contaminantes e insectos, luego de la selección se procedió a lavar las hojas con agua potable y enjuagada con agua destilada dejándose escurrir para eliminar el exceso de humedad.

La identificación taxonómica se realizó en el Laboratorio Biológico y Análisis Clínico Santa Rosa E.I.R.L.

Para la deshidratación de la muestra las hojas se distribuyeron sobre bandejas de papel kraft y secadas en una estufa con aire recirculante a una temperatura de 40 °C por 24 h para facilitar el proceso de extracción.

Luego se procedió a realizar la molienda hasta lograr que las hojas crocantes estén pulverizadas con la ayuda de un mortero y pilón de porcelana, con la finalidad de reducir el tamaño de partículas y mejorar el proceso de extracción al incrementar la superficie de contacto.

El extracto hidroalcohólico se realizó en el Laboratorio Biológico y Análisis Clínico Santa Rosa E.I.R.L se procedió a preparar la solución hidroalcohólica en un envase de vidrio de color ámbar se agregó 3 L de etanol al 96% agua destilada 1 k de las hojas pulverizadas (en proporción 40/60), dejando macerar por 10 días en un ambiente protegido, con movimientos homogenizados diarios finalizado el tiempo se realizó una filtración con papel Whatman N° 1 y un embudo, el filtrado se depositó en tres fuentes de vidrio y llevó a una estufa convencional a 40 °C por 72 h para la evaporación y sequedad, Obteniéndose de esta forma el extracto seco llamado melcocha.

La unidad de análisis utilizada fue la cepa certificada de *Candida albicans*.

## 2.3 VARIABLES DE INVESTIGACIÓN

**Variable independiente:** Extracto hidroalcohólico de *Hamelia patens* Jacq. (Arco sacha)

Definición conceptual: Concentración del extracto se usa alcohol de 70° y hojas secas de la especie vegetal.

Definición operacional: Extracto hidroalcohólico es el proceso de concentrar y obtener los principios activos de la planta que sintetizan los metabolitos primarios y secundarios.

**Variable dependiente:** Efecto antimicótico frente a la cepa de *Candida albicans*.

Definición conceptual: Conjunto de compuestos que eliminan o reducen la actividad micótica.

Definición operacional: La actividad antimicótica se evaluó mediante el Método Kirby Bauer.

## 2.4. TÉCNICAS E INSTRUMENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS

La técnica que se utilizó en el estudio es la observación, y el instrumento de recolección de datos fue mediante el uso de fichas en las que se recepción los resultados de la prueba de solubilidad, tamizaje fitoquímico y del ensayo microbiológico para el hongo utilizado.

## 2.5. PROCESO DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Basado en la observación no participativa, se realizaron los siguientes procesos.

### 2.5.1 Análisis previo del extracto hidroalcohólico

Se realizó en el Laboratorio Biológico y Análisis Clínico Santa Rosa E.I.R.L. donde ejecutamos las siguientes pruebas:

- a) **Índice afrosimétrico:** Se colocó 0,5 gramos de extracto seco en un tubo de ensayo y se adicionan 5 mL de agua destilada con agitación constante durante 2 minutos apreciándose espuma persistente lo cual confirmó la presencia de saponinas.
- b) **Determinación de pH a 25 °C:** Se colocó en un tubo de ensayo 1 gramo de extracto seco y luego se procedió a agregar 6 mL de solvente 40° de etanol y 60 ml de agua destilada (40°/60), disolviéndose en agitación constante a una temperatura de 25 °C. Se procedió a medir el pH con un peachímetro marca Hanna.

**c) Prueba de solubilidades:** En 7 tubos de ensayo se agregó 0,5 gramos de extracto seco y se adiciono 0,5 mL de los solventes: éter de petróleo, diclorometano, cloroformo, butanol, etanol 96 %, metanol y agua destilada.

### **2.5.2 Marcha fitoquímica.**

Este proceso nos permitió la identificación de metabolitos secundarios de la especie vegetal que se efectuó a través del análisis fitoquímico preliminar, mediante procedimientos químicos de reacción por coloración y precipitación con el método de Olga lock (37,38).

Como se detalla a continuación.

- Reacción de cloruro férrico: Obtención de Compuestos fenólicos
- Reacción de Liebermann- Burchard: Obtención de terpenos y esteroides.
- Reacción de Dragendorff: Obtención de Alcaloides.
- Reacción de Shinoda: Obtención de Flavonoides.
- Reacción de Mayer: Obtención de Alcaloides
- Reacción de Wagner: Obtención de Alcaloides
- Reacción de Gelatina-sal: Obtención de Taninos.
- Reacción de Gelatina: Obtención de Taninos.
- Reacción de Bornträger: Obtención de Antraquinonas.
- Reacción de Legal y Baljet: Obtención de Lactonas Sesquiterpénicas.
- Reacción de NaOH: Obtención de Antocianinas

### 2.5.3 Actividad antimicótica método Kirby Bauer o antibiograma

Se realizó en el Laboratorio Biológico y Análisis Clínico Santa Rosa E.I.R.L. por el método de discos de difusión en agar Kirby Bauer, Con este método nos permitió la evaluación de la actividad antimicótica del extracto hidroalcohólico de *Hamelia patens Jacq.* (arco sachá) frente a cepas de *Candida albicans* <sup>39</sup>.

#### a. Preparación del extracto a ensayar

Con la obtención de la muestra seca se reconstituye esta misma a una concentración de 40° de alcohol y 60 ml de agua destilada.

- ❖ En 2,5 gr de extracto seco se agregó etanol al 40 % aforando la probeta a 100 ml que equivale al 2,5 %.
- ❖ En 5 gr de extracto seco se agregó etanol al 40 % aforando la probeta a 100 ml que equivale al 5 %.
- ❖ En 10 gr de extracto seco se agregó etanol al 40 % aforando la probeta a 100 ml que equivale al 10 %.
- ❖ En 20 gr de extracto seco se agregó etanol al 40 % aforando la probeta a 100 ml que equivale al 20 %.

#### b. Activación de la cepa de *Candida albicans*

De acuerdo con las especificaciones del fabricante el producto Kwik-stik que contiene la cepa *Candida albicans* liofilizada en un pellet, contiene una ampolla en la parte superior que al presionar se liberó el líquido hidratante y se mantuvo en posición vertical para ayudar a facilitar que el líquido precipite hacia los gránulos de la Cepa y se presionó la parte inferior de la unidad para lograr una suspensión homogénea <sup>40</sup>.

Seguidamente se procedió a embeber el hisopo que contiene el producto con el material hidratado y sembrar en el agar Sabouraud con presencia de un mechero bunsen incubando a 35 °C por 24 hr.

### **c. Preparación del inóculo**

En un tubo de ensayo se procedió a colocar solución salina estéril, y con la ayuda de un asa de henle previamente flameado en el mechero, se inoculó directamente en un tubo de ensayo dos a tres colonias de la cepa *Candida albicans* ATCC agitando el inóculo hasta obtener una solución homogénea aproximada ( $1,5 \times 10^8$  UFC/ml). Esto se logra simplemente comparando el grado de turbidez del inóculo con el estándar McFarland 0,5 hasta igualarlo.

### **d. Preparación de los medios de cultivo**

Siguiendo las instrucciones del fabricante se utilizó como medio de cultivo Agar Sabouraud, en un vaso de precipitado se mezcló el agar con el agua destilada se homogeneizó en baño maría y se llevó a autoclavar para esterilizar a 121 °C por 15 minutos, luego se sacó y se esperó que enfríe a 45 °C, luego fueron vertidos sobre placas Petri de 90 mm de diámetros dejándose solidificar a temperatura ambiente<sup>41</sup>.

### **e. Inoculación de las placas.**

Se procedió a inocular sobre la superficie de placas Petri contenido con el medio de cultivo agar Sabouraud; para tal fin utilizamos el mechero bunsen y un hisopo de algodón estéril, que introducimos al tubo con el inóculo, eliminando el exceso de líquido, haciéndolo rotar con suave presión sobre el borde y hacia adentro del tubo de ensayo. Se inoculó en cuatro direcciones en ángulos de 90° que cubra toda la superficie de la placa y los bordes fue sembrado por el método de estría para asegurar una distribución uniforme del inóculo dejándolo reposar por 15 minutos, previamente todas las placas fueron rotuladas y posteriormente fueron colocados todos los discos de papel filtro Whatman N° 1 de 6 mm. de diámetro.

## **f. Grupos a ensayar**

Se colocó cada disco embebido con 10 uL de la muestra en las placas con la ayuda de una pinza estéril, este proceso se realizó por triplicado e incubado a 35 °C por 24 horas en posición invertida<sup>42</sup>.

Grupo I: Discos embebidos con etanol al 40°/60 de agua como grupo control negativo.

Grupo II: Discos embebidos fluconazol 25 ug. como grupo control positivo

Grupo III: Discos embebidos con extracto hidroalcohólico de las hojas de *arco sacha* al 2,5 %.

Grupo IV: Discos embebidos con extracto hidroalcohólico de las hojas de *arco sacha* al 5 %.

Grupo VI: Discos embebidos con extracto hidroalcohólico de las hojas de *arco sacha* al 10 %.

Grupo VII: Discos embebidos con extracto hidroalcohólico de las hojas de *arco sacha* al 20 %.

## **f. Interpretación de los resultados**

Concluido el tiempo de incubación, se examinó cada placa y con la ayuda de un calibrador vernier se procedió a medir los halos de inhibición.



## **2.6. MÉTODOS DE ANÁLISIS ESTADÍSTICOS**

Una vez logrado los resultados de dichos análisis se realizó las valoraciones empleando la estadística descriptiva valiéndonos del sistema estadístico SPSS IBM 25 Static, se realizó también las pruebas de Anova y Tukey y los datos fueron representados en tablas estadísticas <sup>(43,44)</sup>.

## **2.7. ASPECTOS ÉTICOS**

Este trabajo de investigación se realizó teniendo en cuenta las normas dadas en la declaración de Helsinki Corea 2008 - "La investigación debe realizarse de manera que reduzca al mínimo el posible daño al medio ambiente"<sup>45</sup>.

### III. RESULTADOS

#### 3.1 De las pruebas de solubilidad de *Hamelia patens jacq* (arco sacha)

Tabla 1. Solubilidades del extracto hidroalcohólico desecado

SOLVENTES	RESULTADOS
Éter de petróleo	-
Diclorometano	-
Cloroformo	-
Butanol	-
Etanol al 96°	-
Metanol al 96°	+
Agua destilada	+++

Dónde: (-) Insoluble (+) Poco soluble (++) Soluble (+++) Muy soluble

En la tabla 1, podemos observar que el extracto hidroalcohólico desecado de las hojas de *Hamelia patens jacq* (arco sacha) manifestó gran solubilidad con el agua destilada y poco soluble con el metanol al 96 %.

### 3.2 De la marcha fitoquímica

**Tabla 2. Marcha fitoquímica del extracto hidroalcohólico desecado de arco sacha**

CONSTITUYENTES QUÍMICOS	ENSAYO	REACCIÓN
<b>Metabolitos secundarios</b>		
<b>Compuestos fenólicos</b>	Rvo. Cloruro férrico	+++
<b>Esteroides y triterpenoides</b>	Rvo. Liebermann-Burchard	-
<b>Taninos</b>	Rvo gelatina sal	+
<b>Taninos</b>	Rvo. Gelatina	+
<b>Flavonoides</b>	Rvo. Shinoda	-
<b>Antocianinas</b>	Rvo. NaOH 10 %	+++
<b>Lactonas <math>\alpha</math>, <math>\beta</math>-insaturadas</b>	Rvo. Baljet	+
<b>Alcaloides</b>	Rvo. Dragendorff	+++
	Rvo. Mayer	+++
<b>Alcaloides</b>	Rvo. Wagner	+++
<b>Saponina</b>	Rvo. Espuma	++

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

En la tabla 2, podemos estimar que el extracto hidroalcohólico de las hojas de arco sacha reveló numerosa cantidad de alcaloides, seguido de antocianinas, saponinas y compuestos fenólicos.

### 3.3 CUADRO ESTADÍSTICO DESCRIPTIVO:

De la actividad antimicótica del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Hamelia patens jacq.* frente a la cepa *Candida albicans*.

0,2		0,1		0,05		0,025		fluconazol 25 ug		etanol	
<b>Media</b>	9,52	<b>Media</b>	7,342	<b>Media</b>	6	<b>Media</b>	6	<b>Media</b>	16,32	<b>Media</b>	6
<b>Error típico</b>	0,0070711	<b>Error típico</b>	0,01114	<b>Error típico</b>	0	<b>Error típico</b>	0	<b>Error típico</b>	0,0158	<b>Error típico</b>	0
<b>Mediana</b>	9,52	<b>Mediana</b>	7,34	<b>Mediana</b>	6	<b>Mediana</b>	6	<b>Mediana</b>	16,31	<b>Mediana</b>	6
<b>Moda</b>		<b>Moda</b>	7,32	<b>Moda</b>	6	<b>Moda</b>	6	<b>Moda</b>		<b>Moda</b>	6
<b>Varianza de la muestra</b>	0,00025	<b>Varianza de la muestra</b>	0,00062	<b>Varianza de la muestra</b>	0	<b>Varianza de la muestra</b>	0	<b>Varianza de la muestra</b>	0,0012	<b>Varianza de la muestra</b>	0
<b>Rango</b>	0,04	<b>Rango</b>	0,06	<b>Rango</b>	0	<b>Rango</b>	0	<b>Rango</b>	0,09	<b>Rango</b>	0
<b>Mínimo</b>	9,5	<b>Mínimo</b>	7,32	<b>Mínimo</b>	6	<b>Mínimo</b>	6	<b>Mínimo</b>	16,29	<b>Mínimo</b>	6
<b>Máximo</b>	9,54	<b>Máximo</b>	7,38	<b>Máximo</b>	6	<b>Máximo</b>	6	<b>Máximo</b>	16,38	<b>Máximo</b>	6
<b>Suma</b>	47,6	<b>Suma</b>	36,71	<b>Suma</b>	30	<b>Suma</b>	30	<b>Suma</b>	81,6	<b>Suma</b>	30

La tabla N° 3.3 nos presenta los valores promedio de los 6 grupos de datos, así como sus rangos de variación con un nivel de confianza del 95 %, asimismo, muestra los valores máximos y mínimos obtenidos. Podemos apreciar que los grupos evaluados de los extractos hidroalcohólicos de *Hamelia patens jacq.* (arco sacha) presentan halos de inhibición ligeramente mayores en 2 de sus concentraciones de 10 % y 20 % comparados con el control negativo “Etanol” sin embargo, existe una gran diferencia de estos resultados con el obtenido por el control positivo “fluconazol 25 ug”.

### 3.4 Prueba de ANOVA

#### RESUMEN

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
0,2	5	47,6	9,52	0,0002
0,05	5	30	6	0
0,025	5	30	6	0
fluconazol 25 ug	5	81,6	16,32	0,0012
Etanol	5	30	6	0

#### ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	411,39122	5	82,278243	232863	0,00	2,6207
Dentro de los grupos	0,00848	24	0,0003533			
Total	411,3997	29				

En la tabla N° 3.4 nos interesa el valor "P" donde:  $P < 0,05$  o  $P > 0,05$

**H0:** El extracto hidroalcohólico de *Hamelia patens jacq.* (arco sachá) no presenta actividad antimicótica frente a la cepa de *Candida albicans* ATCC 10231.

**H1:** El extracto hidroalcohólico de *Hamelia patens jacq.* (arco sachá) presenta actividad antimicótica frente a la cepa de *Candida albicans* ATCC 10231.

Dónde: Podemos observar que nuestro valor “P” es menor que 0,05 ( $p < 0,05$ ) entonces rechazamos la hipótesis nula **H<sub>0</sub>** y aceptamos la **H<sub>1</sub>**

### 3.5 Prueba de TUKEY

**TUKEY HSD/KRAMER**

**Alfa 0,05**

Group	Mean	N	Ss	df	q-crit
<b>20 %</b>	9,52	5	0,001		
<b>10 %</b>	7,342	5	0,00248		
<b>5 %</b>	6	5	0		
<b>2,5 %</b>	6	5	0		
<b>fluconazol 25 ug</b>	16,32	5	0,005		
<b>Etanol</b>	6	5	0		
		30	0,00848	24	4,373

## QTEST

group 1	group2	Mean	std err	q-stat	lower	Upper	p-value	mean-crit	Cohen d
20 %	10 %	2,178	0,0084 0635	259,08 9953	2,1412 3905	2,2147 6095	<b>0,00</b>	0,03676 095	115,8685 49
20 %	5 %	3,52	0,0084 0635	418,73 1237	3,4832 3905	3,5567 6095	<b>0,00</b>	0,03676 095	187,2623 02
20 %	2,50 %	3,52	0,0084 0635	418,73 1237	3,4832 3905	3,5567 6095	<b>0,00</b>	0,03676 095	187,2623 02
20 %	flucona zol 25 ug	6,8	0,0084 0635	808,91 2617	6,7632 3905	6,8367 6095	<b>0,00</b>	0,03676 095	361,7567 2
20 %	etanol	3,52	0,0084 0635	418,73 1237	3,4832 3905	3,5567 6095	<b>0,00</b>	0,03676 095	187,2623 02
10 %	5 %	1,342	0,0084 0635	159,64 1284	1,3052 3905	1,3787 6095	<b>0,00</b>	0,03676 095	71,39375 27
10 %	2,50 %	1,342	0,0084 0635	159,64 1284	1,3052 3905	1,3787 6095	<b>0,00</b>	0,03676 095	71,39375 27
10 %	flucona zol 25 ug	8,978	0,0084 0635	1068,0 0257	8,9412 3905	9,0147 6095	<b>0,00</b>	0,03676 095	477,6252 7
10 %	etanol	1,342	0,0084 0635	159,6 41284	1,3052 3905	1,3787 6095	<b>0,00</b>	0,03676 095	71,39375 27
5 %	2,50 %	0	0,0084 0635	0	- 0,0367 6095	0,0367 6095	1,00	0,03676 095	0
5 %	flucona zol 25 ug	10,32	0,0084 0635	1227,6 4385	10,283 239	10,356 761	<b>0,00</b>	0,03676 095	549,0190 22
5 %	etanol	0	0,0084 0635	0	- 0,0367 6095	0,0367 6095	1,00	0,03676 095	0
2,50 %	flucona zol 25 ug	10,32	0,0084 0635	1227,6 4385	10,283 239	10,356 761	<b>0,00</b>	0,03676 095	549,0190 22
2,50 %	etanol	0	0,0084 0635	0	- 0,0367 6095	0,0367 6095	1,00	0,03676 095	0
flucona zol 25 ug	etanol	10,32	0,0084 0635	1227,6 4385	10,283 239	10,356 761	<b>0,00</b>	0,03676 095	549,0190 22

En este cuadro N° 3.5 de las pruebas de Tukey analizamos las posibles combinaciones entre todos los 6 grupos de ensayo y observaremos entre qué grupos hay o no diferencias, para esto se analiza el **P valor** donde podemos observar que todos los grupos resaltados tienen diferencias estadísticamente significativas con valores  $P < 0,05$  excepto las concentraciones de: 5 % con 2,5 %; 5 % con etanol y 2,5 % con etanol que tienen valores  $P > 0,05$  que no tienen diferencia significativa.



## IV. DISCUSIÓN

### 4.1 Discusión de resultados

Para el desarrollo del presente estudio se realizaron diversos análisis al extracto hidroalcohólico de las hojas de *Hamelia patens jacq. (arco sacha)*, ensayos para precisar el efecto antimicótico in vitro frente a *Candida albicans*. En el análisis fitoquímico del extracto hidroalcohólico de las hojas de *arco sacha* evidencia la presencia de metabolitos secundarios de gran interés por su actividad farmacológica encontrándose a los compuestos fenólicos, alcaloides, antocianinas y saponinas. los que podrían dar la actividad antimicótica, dato que coincide con lo investigado por Abubacker M, et al (2013)<sup>24</sup>, donde indican que *Hamelia patens* es un antimicótico excelente para frenar la micosis patógena en vegetales y humanos, lo que refuerza el estudio realizado, esto a su vez se corrobora con lo investigado por Sahana B. et al (2016)<sup>26</sup> y Umaiymbigai D. (2016)<sup>27</sup> quienes indican que la presencia de metabolitos secundarios como los polifenoles se correlacionan con efectos antimicóticos. A partir de los resultados encontrados se determinó que el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Hamelia patens jacq.(arco sacha)*, presentó efecto inhibitorio frente *Candida albicans* con halo de inhibición de 9,52 mm en la concentración de 20 % lo que coincide con el trabajo realizado por Okoye E, et al (2016)<sup>28</sup>, en cuyo resultado del análisis de su investigación mostraron que los extractos tienen diversos grados de actividad antimicrobiana que oscilan entre 7 mm y 44 mm contra los aislamientos utilizados mostrando crecimiento.

## 4.2 Conclusiones

Los estudios realizados en el presente trabajo nos permiten llegar a las siguientes conclusiones:

- ❖ La marcha fitoquímica preliminar detectó la existencia de metabolitos secundarios en mayor cantidad los compuestos fenólicos, alcaloides, antocianinas y saponinas, que en conjunto serían los responsables de la actividad antimicótica del recurso vegetal.
- ❖ El extracto hidroalcohólico de *Hamelia patens jacq.* Presentó ligera actividad antimicótica utilizando el método Kirby Bauer en la concentración del 20 %.
- ❖ El extracto hidroalcohólico de *Hamelia patens jacq.* (arco sachá) tiene efecto antimicótico in vitro a la concentración del 20 % con 9,52 mm de halo de inhibición lo cual es inferior en comparación de lo obtenido por el fluconazol que consiguió 16,32 mm de halo de inhibición frente a cepas de *Candida albicans*.

## 4.3 Recomendaciones

Realizar estudios comparativos en tallos, flor y fruto de esta especie vegetal para un mejor aporte a la medicina tradicional.

Realizar investigaciones de esta especie vegetal que procedan de diversas zonas geográficas y en diferentes estaciones del año.

Realizar estudios de mayores concentraciones del extracto de arco sachá para mejores resultados.

Realizar investigaciones sobre toxicidad de esta especie vegetal para usarlo de manera segura.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Wong-zse S, Kao-Yi R, Yuen-Yon K, Wang Y, Yang D, Samaranayake L. et al. Actividad in vitro e in vivo de una nueva molécula pequeña antifúngica contra las infecciones por *Candida*. Artículo científico publicado en Rev. Plos one 9.1. 2015 [acceso: 03/05/21]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.>
2. Taudorf E, Jemec E, Saunte D. Candidiasis cutánea: una revisión basada en la evidencia de los tratamientos tópicos y sistémicos para informar la práctica clínica. Revista de la Academia Europea de Dermatología y Venereología 2019. [acceso: 12/05/ 2021];33. (10):1863-1873. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/jdv.15782>
3. Popova T, Todev I. Micosis atípica en cerdos salvajes. Artículo científico publicado en Rev. Trad y modern en med veter. [acceso: 19/04/21] 3. (1): 21-24. 2018. Disponible en: <https://scij-tmvm.com/vol./vol.3/21-24.pdf>
4. Zurita M. Situación de la resistencia antifúngica de especies del género *Candida* en Perú. Rev Perú Med Exp Sal Pub. 2018 [acceso: 27/04/2021]; 35(01) Disponible en: <https://rpmesp.ins.gob.pe/index.php/rpmesp/article/view/3563/2997>
5. Gallegos- Zurita M. Las plantas medicinales: principal alternativa para el cuidado de la salud, en la población rural de Babahoyo, Ecuador. Rev An Fac med Lima 2016. [acceso 16/04/2021]; 77 (4) Disponible en: [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1025-55832016000400002](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1025-55832016000400002)

6. Radice M, Bravo L, Pérez M. Determinación de polifenoles en cinco especies amazónicas con potencial antioxidante. Artículo científico publicado en Revista Amazónica Ciencia y Tecnología. 2017. [acceso: 1 <https://revistas.proeditio.com/REVISTAMAZONICA/article/view/16/05/21>];(6).1.55-64. Disponible en:
7. Bussmann Rainer, Douglas Sharon. Plantas medicinales de los Andes y la Amazonia. Perú: GRAFICART SRL; 2015. [acceso 16/04/2021]. Disponible en: <https://docs.bvsalud.org/biblioref/2018/10/916684/plantas-medicinales-de-los-andes-y-la-amazonia-la-flora-magica-Qa3dgqr.pdf>
8. Gunduz T, Gunduz K, Degerli K, Limonku M. Perfil epidemiológico de la onicomicosis en los ancianos que viven en hogares de ancianos. Artículo científico publicado en Rev Med Geri Euro (5).3 .2014: 172-174. [acceso: 28 de abril del 2021]. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.eurger.2013.11.012>
9. Puig M. Epidemiología y optimización del manejo clínico de la candidemia: Resultados de un estudio poblacional en España. [Tesis para optar al grado de Doctora en Medicina, Universidad Autónoma de Barcelona], España 2016.
10. Zurita S. Situación de la resistencia antifúngica de especies del género *Candida* en Perú. Rev Perú Med Expe Sal Pub. 2018 [acceso: 27/04/2021]; 35(01) Disponible en: <https://rpmesp.ins.gob.pe/index.php/rpmesp/article/view/3563/2997>
11. Abad-Hamided E, Zaini F., Kordbacheh P, Faridhel Z, Mahamoud M, Parivash K, Mashin S. Actividad in vitro de caspofungina contra especies de *Candida* resistentes a fluconazol aisladas de muestras clínicas en Irán. Jundishapur revista de microbiología 2015. [acceso: 10/05/2021]; 29(4): 1543-1547. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4548404/>

12. Calvo B, Melo A., Peroz A., Hernández M, Colombo A. Primer informe de *Candida auris* en Estados Unidos: Aspectos clínicos y microbiológicos de 18 episodios de candidemia. Diario de infección. 201 [ acceso: 12/05/21]; 73. (4):369-374. Disponible en:  
<https://doi.org/10.1016/j.jinf.2016.07.008>
13. Nocua-Báez L, Uribe-Jerez P, Tarazona-Guaranga L, Robles R, Cortés J. Azoles de antes y ahora: una revisión. Rev. chil. infectol. no.3 Santiago jun. 2020. [acceso: 29/04/2021]; vol.37. Disponible en:  
<http://dx.doi.org/10.4067/s0716-10182020000300219>
14. Oliva C, Alías M. Capítulo 9. Infección fúngica invasiva. Candidiasis invasiva. ¿Cuándo iniciar tratamiento?”. Actualizaciones en anestesiología, reanimación y tratamiento del dolor 2016. [acceso: 01/05/2021]. Disponible en:  
<https://www.researchgate.net/profile/>
15. Semreen M, Soliman S, Saedd B, Alqarihi A. Perfil metabólico de *Candida auris*, una especie de *Candida* resistente a múltiples fármacos recientemente emergente, por GC-MS. Moléculas 2019 [acceso: 02/05/2021]; 24. (3):399 Disponible en:  
<https://doi.org/10.3390/molecules24030399>
16. Caicedo Ch, Figueroa Ch. Estudio comparativo de la actividad antimicótica de los extractos de *Chenopodium quínoa* y *Moringa oleífera* en cepas de *Cándida albicans*. Diss. Universidad de Guayaquil. Facultad de Ciencias Químicas, 2019. [acceso: 15/05/ 2021]. Disponible en:  
<http://repositorio.ug.edu.ec/handle/reduq/39919>

17. Kumud T, Jaya M. Fitoquímica y farmacología de algunas plantas médicamente importantes de la familia Rubiaceae. Artículo científico publicado en Rev. Folletos de ciencias de la vida. 2016. [acceso: 04/05/2021]; (72), 67 a 100. Disponible en:  
<http://petsd.org/ojs/index.php/lifesciencesleaflets/article/view/1001>
18. Alons A, Balleza S, Hernández A. Toxicidad y efectos antinociceptivos de *Hamelia patens*. Artículo científico publicado en Revista Brasileira Farmacognosia 2015. [acceso: 10/05/2021]; 25 (2): 170-176;  
Disponible en:  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0102695X15000654>
19. Pandey A. y Tripathi S. Concepto de estandarización, extracción y estrategias de detección pre-fitoquímicas para medicamentos a base de hierbas. Artículo científico publicado en Revista de Farmacognosia y Fitoquímica (2.5) 2014. [acceso: 03/05/2021], Disponible en:  
[http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0253-57852018000300092&lng=es&tlng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0253-57852018000300092&lng=es&tlng=es).
20. García-Escudero M. El arco iris en la cosmovisión prehispánica centroandina. Gazeta de Antropología, Publicado: 2007-06. [acceso: junio 2021]; 2007, 23, artículo 15. Disponible en:  
[https://www.ugr.es/~pwlac/G23\\_15Carmen\\_Garcia\\_Escudero.html](https://www.ugr.es/~pwlac/G23_15Carmen_Garcia_Escudero.html)
21. Jiménez V, Antiinflamatorio, eliminación de radicales libres y actividades inhibitoras de la alfa-glucosidasa de *Hamelia patens* y sus componentes químicos. Art. Publicado en Rev. Biología Farmacéutica (.54): 9: 1822-1830 2016 [acceso: 05/05/2021] Disponible en:  
<https://doi.org/10.3109/13880209.2015.1129544>

22. Barrero E. Instituto de Ecología, AC INECOL. Xalapa Veracruz México 1975-2021 [acceso: 2/07/2021] disponible en: <https://www.inecol.mx/inecol/index.php/es/ct-menu-item-25/planta-del-mes/37-planta-del-mes/924-hamelia-patens>
23. Rubio-Fontanillis Y, Valdivia-Ávila Á, Camacho-Campos C, Matos-Trujillo M, Sosa del Castillo M, Pérez-Hernández Y. Composición fitoquímica y actividad antibacteriana de extractos de hoja de *Hamelia patens jacq.* 2018. [acceso: 8/05/2021]; 1: 37 - 45 (18). Disponible en: <https://revista.ibp.co.cu/index.php/BV/article/view/574/pd>
24. Rodríguez B, y Santa María L. Eficacia antifúngica in vitro de *Uncaria tomentosa* frente a *Eucalyptus globulus* sobre *Candida* sp. [Tesis para optar el título de Obstetra]. Universidad Privada Antenor Orrego, Trujillo; 2017.
25. Milla A. Evaluación del efecto antimicótico in vitro del extracto de *Uncaria tomentosa* (uña de gato) sobre la *Candida Albicans*, distrito de Chimbote, provincia del Santa, departamento de Ancash, 2018. [Tesis para optar el título de Cirujano Dentista]. Chimbote: Universidad Católica Los Ángeles; 2019.
26. Sahana B, Akhilesha S, Priyanka G, Prashith Kekuda T. Actividad antioxidante y antifúngica de *Geophila repens* (L.) I. M. Johnst. (Rubiaceae). Artículo científico publicado en la Revista JDDT 10 Sep.2018 [acceso: 02/05/2021]; 8 (5): 268-72. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.22270/jddt.v8i5.1837>
27. Okoye E, Ezeogo J. Actividad antimicrobiana de los extractos crudos de *Hamelia patens* en algunas muestras clínicas seleccionadas. Artículo científico publicado en la Revista Journal of Complementary and Alternative Medical Research 2016. [acceso: 03/05/21];.1-7 Disponible en: <https://doi.org/10.9734/JOCAMR/2016/27258>

28. Umaiyambigai D, Saravanakumar K. y Adaikala G. Perfil fitoquímico y actividad antifúngica de las hojas Extracto de metanol de *Psydrax dicoccos* (Gaertn) Teys. y Binn. Familia Rubiaceae. Artículo científico publicado en la Revista Internacional de Farmacología, Fitoquímica y Etnomedicina Enviado: 2016-11-04 ISSN: 2297-6922,7, (53-61. [acceso: 02/05/2021]; Disponible en:  
<https://doi.org/10.18052/www.scipress.com/IJPPE.7.53>
29. Abubacker N, Sathya C. y Prabakaran R. Potenciales antifúngicos in vitro de *Hamelia patens Jacq.* (Rubiaceae) extractos acuosos de hojas, flores y frutos. Artículo científico publicado en la Revista Biosci. Biotecnol. Res. Asia 10 -2013. [acceso 03/05/2021]; 699-704. Disponible en:  
<http://dx.doi.org/10.13005/bbra/1183>
30. Dueñas-Linares H, Garate-Quispe J. Diversidad, dominancia y distribución arbórea de Madre de Dios Perú. Rev Forest del Perú. 2018 [acceso: 10/06/2021]; 33(1): 4-23. Disponible en:  
<http://dx.doi.org/10.21704/rfp.v33i1.1152>
31. Zambrana T. Beneficios de la fitoterapia. Rev cubana Plant Med. 2005. [acceso:10/05/21]; 10(2) Disponible en:  
[http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1028-47962005000200001&lng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962005000200001&lng=es)
32. Martínez A. Obtención y caracterización de Extracto Etanólico de *Hamelia patens Jacq.* Aplicación Tópica [ título para optar al grado de Maestra en Artes] Universidad San Carlos de Guatemala; 2016.
33. Arispe C, Yangali J, Guerrero M, Rivera O, Acuña L, Arellano C. La investigación científica. Editado y publicado: Universidad Internacional del Ecuador; 2020.



34. Hernández R. Metodología de la Investigación. 6ta ed. México, D.F.: Mc Graw Hill; 2014.
35. Mercedes- Romero G, Isaac- Virgen M, Huacuja-Ruiz L, Ramos- Rodríguez I, Ornelas- Arana M, Pérez- García G. Normas de bioseguridad y manejo de muestras biológicas, material, equipo y procedimientos 2016. [acceso 05/05/21] Disponible en:  
<https://accessmedicina.mhmedical.com/content.aspx?sectionid=100109634&bookid=1496>
36. Colque A, Rojas J. "Efecto Antifúngico in vitro del extracto hidroalcohólico del Mastuerzo de Indias *Tropaeolum majus L*, sobre *Candida albicans* ATCC 10231 [Tesis para optar EL Título Profesional de Químico Farmacéutico] Lima: Universidad Maria Auxiliadora; 2020.
37. Look O. Investigación fitoquímica. Edición: 2016  
[https://departamento.pucp.edu.pe/ciencias/pub\\_dpto/investigacion-fitoquimica-metodos-en-el-estudio-de-productos-naturales/#](https://departamento.pucp.edu.pe/ciencias/pub_dpto/investigacion-fitoquimica-metodos-en-el-estudio-de-productos-naturales/#)
38. Vílchez- Caceda H, Cervantes-Ganoza L. Evaluar el efecto antibacteriano sinérgico de rifamicina en propóleo sobre bacterias Gram positivas. Rev cubana Med Militar 2021. [Acceso: 20/10/21]; 50(3): e02101336. Disponible en:  
<https://es.scribd.com/document/436121356/Revista-Cubana-de-Medicina-Militar>
39. Villavicencio G, Eleodoro J. Efecto antimicótico in vitro del orégano (*Origanum vulgare*) en cepas de *Candida albicans* procedentes de la Estomatitis Sub Protésica. [Tesis Magíster en Estomatología]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2017.

40. Laboratorio Microbiologics. Cepas microbiológicas. Cooper Ave. Estados Unidos; 2020. [acceso: 05 /07/2021]. Disponible en: [https://www.microbiologics.com/core/media/media.nl?id=530&c=915960&h=fe0261b9ecb4cb8f6a9c&\\_xt=.pdf](https://www.microbiologics.com/core/media/media.nl?id=530&c=915960&h=fe0261b9ecb4cb8f6a9c&_xt=.pdf)
41. Laboratorios Britania. Medios de cultivo deshidratados. Argentina: Britania; 2015. [acceso: 07/03/2021]. Disponible en: [https://www.britanialab.com/productos/filtrar/2/medios de cultivo deshidratados](https://www.britanialab.com/productos/filtrar/2/medios_de_cultivo_deshidratados)
42. Montero-Recalde M, Vayas L, Avilés-Esquivel D, Pazmiño P, Erazo-Gutiérrez V. Evaluación de dos métodos para medir la sensibilidad de inhibición de crecimiento de la cepa certificada de *Staphylococcus aureus* subsp. aureus. Rev Inv Vet Perú 2018. [acceso 7/05/21]; 29(4): 1543-1547. Disponible en: [Evaluación de dos métodos para medir la sensibilidad de inhibición de crecimiento de la cepa certificada de Staphylococcus au](#)
43. Moncho J. Estadística aplicada a las ciencias de la salud. España: Editorial Esielver, 2015
44. García J, Jiménez F, Arnaud M, Ramírez Y, Lin L. Introducción a la metodología de la investigación en Ciencias de la Salud. 1er ed. México: McGraw-Hill; 2014.
45. Pérez-Acevedo I. Aspectos éticos de la investigación científica. Rev Cienc.Enferm.2002 [acceso:10/05/2021]. Disponible en: [https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0717-95532002000100003](https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-95532002000100003)

46. Pérez D, Cabrera F, Actividad Antimicótica In vitro del aceite esencial de las hojas de *Origanum vulgare* L. (ORÉGANO) frente a *Candida albicans* ATCC 10231 Y *Trichophyton rubrum* ATCC 28188 [Tesis para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico] Lima: Universidad privada Maria Auxiliadora; 2020.
47. Requejo- Mendoza F, Vásquez -Alarcón D. Efecto Antimicótico “*In Vitro*” Del Aceite Esencial de *Origanum vulgare* “Orégano” Y Resina de Copaífera paupera “Copaiba” sobre *Candida albicans* ATCC 10231 [Tesis para Optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico]. Lima; Universidad María Auxiliadora; 2021.
48. Hassan Y, Abdullahi S, Than L. Infección del pie interdigital por *Candida albicans*: informe de un caso que destaca la importancia de las pruebas de susceptibilidad antimicótica. 2018. [acceso: 13/05/21]. Disponible en: <https://doi: 10.5897/ajmr2018.8897>
49. Guerrero S, Barraza B, Soto A, y Vieyra M. Perfil fitoquímico y determinación de actividad antioxidante de extractos acuosos y etanólicos de *erigonum fasciculatum*. Art. Rev. Jóvenes En La Ciencia 2. (1) 2017: 57-61. [acceso: 17/05/2021]. Disponible en: <https://www.jovenesenlaciencia.ugto.mx/index.php/jovenesenlaciencia/article/view/998>
50. Dentone S, Morales S. In vitro determination of antifungal activity of rosemary oil (*Rosmarinus officinalis*) on *Microsporum canis*. Rev. investig. vet. Perú. [acceso: 17/05/21]; 28 (1): 56-61. 2017. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.15381/rivep.v28i1.12932>
51. Ashour H. y Weaam, R. La aplicación exógena de ácido abscísico o salicílico alivia el estrés de la salinidad del agua de riego en las plantas de Hamelia

patens. Art. Publicado en Rev.Am.-Eur. J. Agric. Environ. Sci. 2016 [acceso: 04/05/2021];16- 1181-1995.Disponible en: <https://pdfs.semanticscholar.org/60a9/e40d0bd2961d1d4111924ab7c1f4e322c3f6.pdf>

## **ANEXOS**

**Anexo A. Operacionalización de las variables.**

**Título:** Efecto Antimicótico In Vitro Del Extracto Hidroalcohólica De *Hamelia Patens* Jacq. (arco sacha) Frente a La Cepa De *Candida albicans*.

VARIABLES	Tipo de variable	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	DIMENSIONES	INDICADORES	N° ITEM	VALOR FINAL	CRITERIOS
<b>VARIABLE INDEPENDIENTE</b> El extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Hamelia patens jacq.</i> (Arco sacha)	cuantitativo experimental	Se usa alcohol de 70° y hojas secas de la especie vegetal	Extracto hidroalcohólico es el proceso de concentrar y obtener los principios activos de la planta que sintetizan los metabolitos secundarios	Marcha fitoquímica	-Identificación de los constituyentes químicos  -Reacción químicas de coloración.  -precipitación  - pruebas de solubilidad.	4	++++ Abundante +++ Moderado ++ Leve + Escaso	Rango de presencia o ausencia
<b>VARIABLE DEPENDIENTE</b> Actividad antimicótica frente a la cepa de <i>Candida albicans</i>	cuantitativo y experimental	Conjunto de compuestos que eliminan o reducen la actividad micótica	La actividad antimicótica Método Kirby Bauer	antimicótico	Medición del diámetro de halo de inhibición (mm)	2	Crecimiento o Sin crecimiento	Evidencia de inhibición de crecimiento

**ANEXO B. INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS**

**MARCHA FITOQUÍMICA DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO**

CONSTITUYENTES QUÍMICOS	ENSAYO	REACCIÓN
Compuestos fenólicos	Rvo. FeCl <sub>3</sub> 5 %	

<b>Taninos</b>	Rvo. Gelatina, Rvo. Gelatina sal	
<b>Flavonoides</b>	Rvo. Shinoda	
<b>Esteroides y terpenos</b>	Rvo. Liebermann Burchard	
<b>Lactonas alfa, beta insaturadas</b>	Rvo. Baljet	
<b>Alcaloides</b>	Rvo. Dragendorff	
	Rvo. Mayer, Rvo. wagner	
<b>Antraquinonas</b>	Rvo. Borntrager	
<b>Antocianinas</b>	Rvo. NaOH 10 %	
<b>Saponinas</b>	Rvo. Espuma	

#### DE LA ACTIVIDAD ANTIMICÓTICA DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO

Microorganismo	Diámetros de inhibición en mm					
	20 %	10 %	5 %	2,5 %	Fluconazol	Etanol
<b>Candida albicans</b>						
<b>ATCC 10231</b>						

## Resultado Microbiológico del Extracto Hidroalcohólico




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

### Informe de Resultados

Solicitado por : CABALLERO MONGE, MILUSCA  
MEZA LOPEZ, NANCY  
Muestra : Extracto de hojas de *Hamelia patens* Jacq.  
Fecha de ensayo: 09-07-2021

Microorganismo	Diámetros de inhibición en mm					
	20%	10%	5%	2.5%	Fluconazol 25 ug	Etanol
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	9.52	7.34	6	6	16.38	6
	9.53	7.35	6	6	16.29	6
	9.50	7.32	6	6	16.31	6
	9.51	7.38	6	6	16.30	6
	9.54	7.32	6	6	16.32	6

\*Tamaño de discos: 6mm, por lo que al reportarse 6mm es indicativo que no existe formación halo de inhibición.

  
Lic. T.M. Walter A. Siri Rodriguez  
CTMP. 10808

# Certificado De Análisis Del Microorganismo Candida Albicans ATCC 10231

## Bruker Daltonik MALDI Biotyper Classification Results



### Meaning of Score Values

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

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

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

Sample Name: Candida albicans  
 Sample Description: 0443  
 Sample ID: 443-911  
 Sample Creation Date/Time: 2018-08-30T16:42:50.263 MB  
 Applied MSP Library(ies): BDAL, Mycobacteria Library (bead method), Filamentous Fungi Library 1.0, Listeria

Sample Name	Sample ID	Organism (best match)	Score Value
B5 (+++)(A)	443-911	Candida albicans	2.24

Comments:

N/A





Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

<b>Specifications</b> Microorganism Name: Candida albicans Catalog Number: 0443 Lot Number: 443-911** Reference Number: ATCC® 10231™* Purity: Pure Passage from Reference: 2	<b>Expiration Date:</b> 2021/7/31 <b>Release Information:</b> <b>Quality Control Technologist:</b> Carol J Stanoch <b>Release Date:</b> 2018/9/5
<b>Performance</b>	
<b>Macroscopic Features:</b> Small to medium, white, circular, convex, dull colonies. <b>Microscopic Features:</b> Gram positive, ovoidal, budding yeast cells.	<b>Medium:</b> Nutrient <b>Method:</b> Gram Stain (1)
<b>ID System:</b> MALDI-TOF (1) See attached ID System results document.	<b>Other Features/ Challenges: Results</b> (1) Germ Tube Test: positive (1) Chlamydospore production: positive   Amanda Kuperus Quality Control Manager AUTHORIZED SIGNATURE
<p>**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.</p> <p>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.</p> <p>⚠ Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information.</p> <p>Individual products are traceable to a recognized culture collection.</p>  <p>ATCC Licensed Derivative</p> <p>(*) 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.</p> <p>(†) These tests are accredited to ISO/IEC 17025:2005.</p>  TESTING CERT #2655.01	

## ANEXO C. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA

JOSÉ RICARDO CAMPOS DE LA CRUZ  
CONSULTOR BOTÁNICO  
C. B. P. N° 3796  
Tel: 017512863 RPM 963689079  
Email: joramde@gmail.com



### CERTIFICACIÓN DE IDENTIFICACIÓN BOTÁNICA

JOSÉ RICARDO CAMPOS DE LA CRUZ, BIÓLOGO COLEGIADO - CBP N° 3796 - INSCRITO EN EL REGISTRO DE PROFESIONALES QUE REALIZAN CERTIFICACIÓN DE IDENTIFICACIÓN TAXONÓMICA DE ESPECÍMENES Y PRODUCTOS DE FLORA - RESOLUCIÓN DIRECTORAL N° 0311-2013- MINAGRI-DGFFS-DGEFFS.

#### CERTIFICA:


Que, las Bachilleres **CABALLERO MONGE, MILUSCA** y **MEZA LOPEZ, NANCY**. Tesis de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad María Auxiliadora, con fines de investigación para desarrollar la tesis titulada: Efecto antimicótico in vitro del extracto hidroalcohólico de *Hamelia patens* Jacq. (Arco sacha) frente a la cepa *Candida albicans*, para optar el título profesional de Químico Farmacéutico, han solicitado la identificación y certificación botánica de una planta procedente de la localidad El Triunfo, del distrito Las Piedras, provincia de Tambopata, departamento de Madre de Dios, donde es conocida con el nombre vulgar de "arco sacha", la muestra ha sido estudiada y determinada con el nombre científico de *Hamelia patens* Jacq. Según la base de Tropicos que sigue el Sistema de clasificación de los grupos de filogenia de las angiospermas (APG), publicado en 1998 por el Grupo para la Filogenia de las Angiospermas, revisado por APG II (2003), APG III (2009) y APG IV (2016), este Sistema de clasificación considera a todas las plantas verdes en la Clase Equisetopsida (Chasse, Mw y J. Reavel. 2009), comparado con el Sistema Integrado de Clasificación de las Angiospermas de Arthur Cronquist. et. al (1981), (1988), ocupa las siguientes categorías taxonómicas.

Categorías	Sistema APG-2016	Sistema de Cronquist 1981
Reino	Plantae	Plantae
División	Angiospermae	Magnoliophyta
Clase	Equisetopsida	Magnoliopsida
Subclase	Magnoliidae	Asteridae
Orden	Gentianales	Rubiales
Familia	Rubiaceae	Rubiaceae
Género	<i>Hamelia</i>	<i>Hamelia</i>
Especie	<i>Hamelia patens</i> Jacq.	<i>Hamelia patens</i> Jacq.

Nombre vulgar: "arco sacha"

Se expide la presente certificación para fines de investigación científica.

Lima, 27 de julio del 2021

  
José R. Campos De La Cruz  
BIOLOGO  
C. B. P. 3796

JR. SANCHEZ SILVA N° 156- piso 2. Urb. Santa Luzmila. Lima 07  
Email: joricampos@yahoo.es; joramde@gmail.com

## ANEXO D. EVIDENCIAS FOTOGRÁFICAS DEL TRABAJO DE CAMPO

Fotografía N° 01: Recolección De *Hamelia Patens Jacq.* (*Arco sacha*)





**FOTOGRAFÍA N° 02: SELECCIÓN, LAVADO Y SECADO DE LAS HOJAS DE *Hamelia patens* JACQ. (ARCO SACHA)**



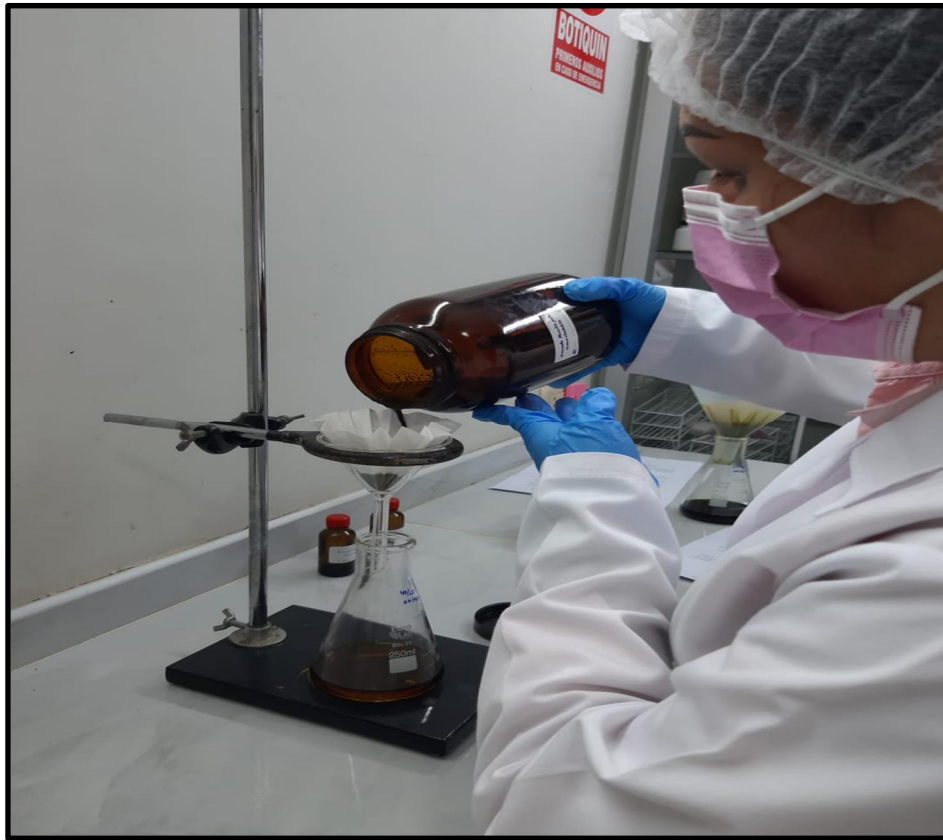
**FOTOGRAFÍA N°03: FRAGMENTO DE LA DROGA VEGETAL SECA**



**FOTOGRAFÍA N° 04: MACERADO**



## FOTOGRAFÍA N°05: FILTRACIÓN DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO



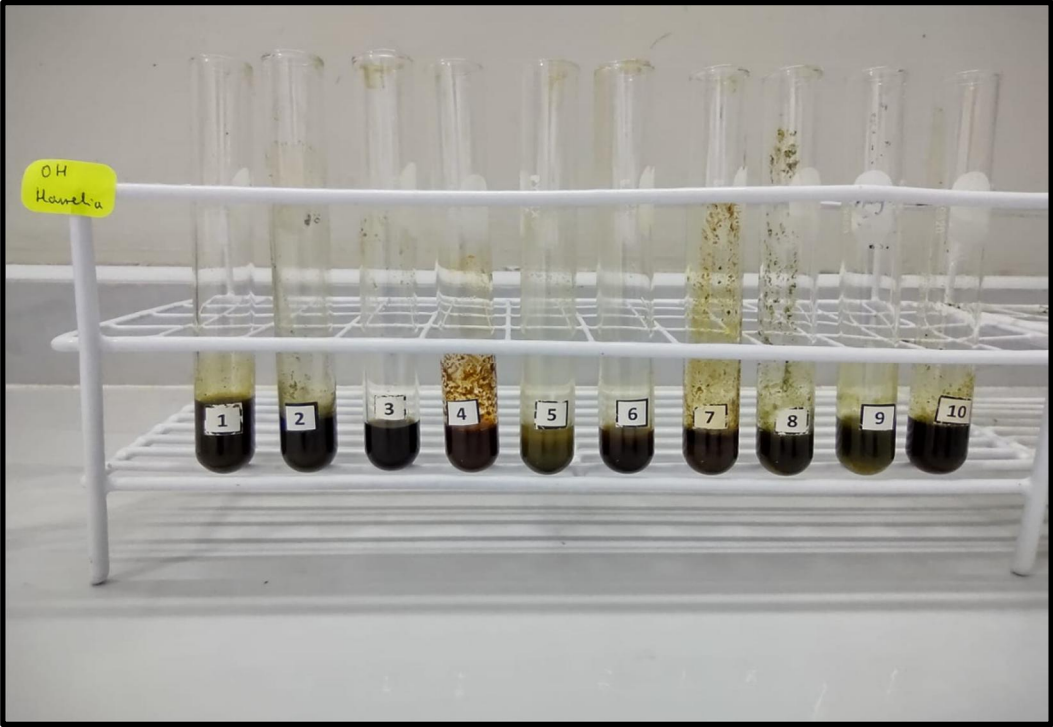


**FOTOGRAFÍA N° 06: OBTENCIÓN DEL EXTRACTO SECO**

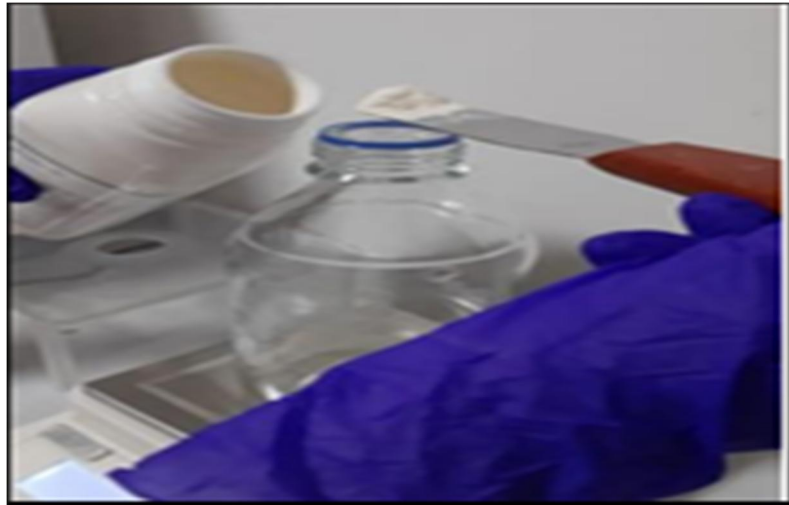




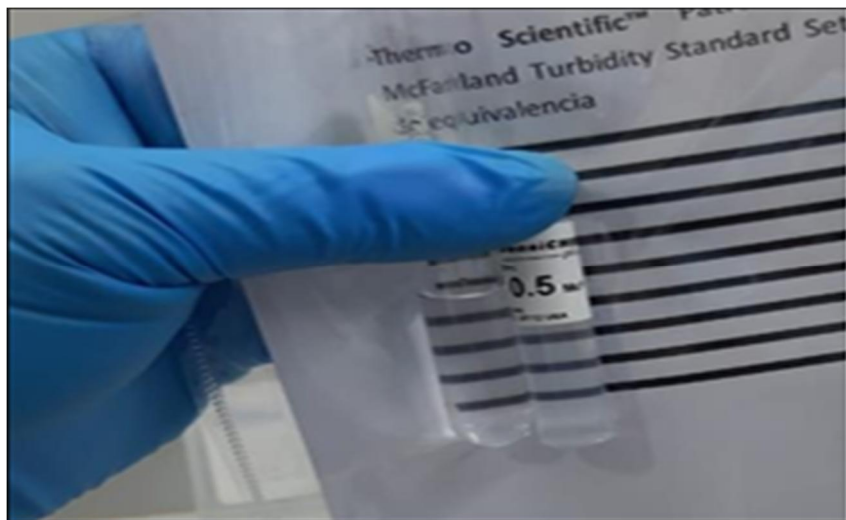
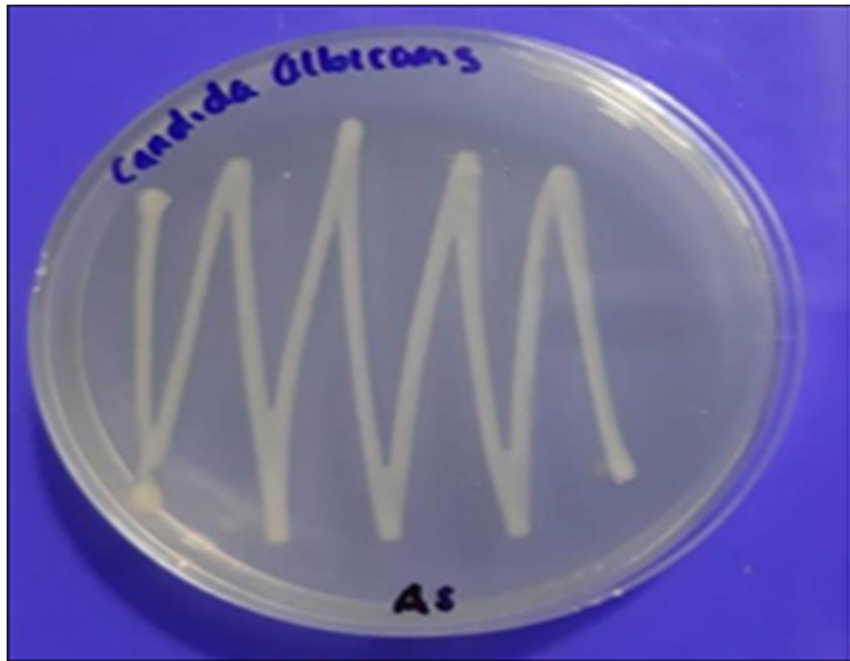
**FOTOGRAFÍA N°7: TAMIZAJE FITOQUÍMICO – IDENTIFICACIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS**



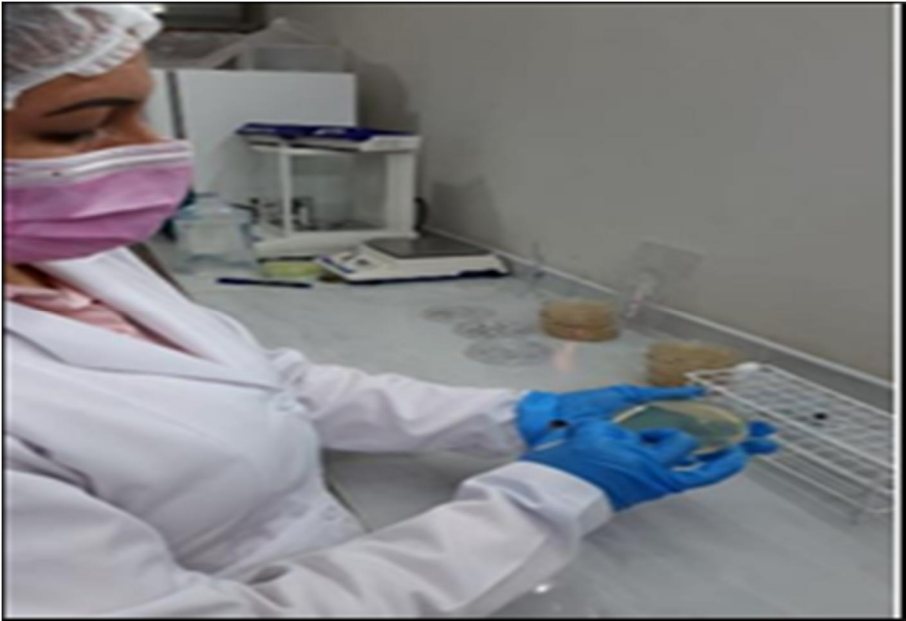
**FOTOGRAFÍA N° 08: PREPARACIÓN DEL MEDIO DE CULTIVO.**



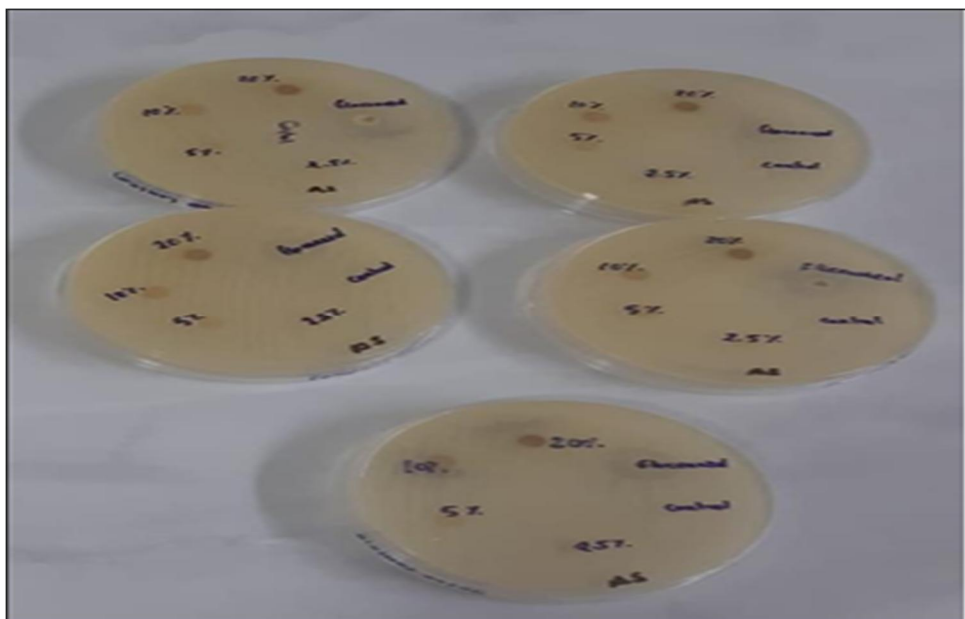
FOTOGRAFÍA N°09: PREPARACIÓN DEL INÓCULO



**FOTOGRAFÍA N° 10: INOCULACIÓN DE LA CEPA DE CANDIDA ALBICANS  
ATCC 10231**



**FOTOGRAFÍA N°11: PREPARACIÓN DE LOS DISCOS DE SENSIBILIDAD E INCUBACIÓN DE LAS PLACAS**





FOTOGRAFÍA N° 12: MEDICIÓN DE LOS HALOS DE INHIBICIÓN

