



---

UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES  
CHIMBOTE

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

**EFECTO IN VITRO DEL EXTRACTO ETANOLICO**  
**DEL FRUTO DE *Vaccinium corymbosum* (arándano)**  
**SOBRE *Candida albicans***

**TRABAJO DE INVESTIGACIÓN PARA OPTAR EL**  
**GRADO ACADÉMICO DE BACHILLER EN**  
**FARMACIA Y BIOQUÍMICA**

**AUTOR**

**ESCOBAR BOBADILLA, LUIS ENRIQUE**

**ORCID: 0000-0003-2124-9545**

**ASESOR**

**LEAL VERA, CÉSAR ALFREDO**

**ORCID: 0000-0003-4125-3381**

**TRUJILLO – PERÚ**

**2019**

## **EQUIPO DE TRABAJO**

### **AUTOR**

Escobar Bobadilla, Luis Enrique

ORCID: 0000-0003-2124-9545

Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote. Estudiante de  
pregrado Trujillo, Perú.

### **ASESOR**

Leal Vera, César Alfredo

ORCID: 0000-0003-4125-3381

Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote. Facultad de Ciencias  
de la Salud. Escuela profesional de Farmacia y Bioquímica. Trujillo,  
Perú.

### **JURADO**

Díaz Ortega, Jorge Luis

ORCID: 0000-0002-6154-8913

Arteaga Revilla, Nilda María

ORCID: 0000-0002-7897-8151

Amaya Lau, Luisa Olivia

ORCID: 0000-0002-6374-8732

## **JURADO EVALUADOR**

Dr. Jorge Luis Díaz Ortega

**Presidente**

Mgtr. Nilda María Arteaga Revilla

**Miembro**

Mgtr. Luisa Olivia Amaya Lau

**Miembro**

Mgtr. César Alfredo Leal Vera

**Asesor**

## AGRADECIMIENTO

*A Dios*

*Quién me dio la vida y las  
fuerzas para seguir luchando  
y poder concluir mis estudios  
y ser una mejor persona.*

*A mis profesores*

*Quienes con su sabiduría me  
otorgaron el conocimiento  
necesario para ser un buen  
profesional.*

*A mis compañeros*

*Con quienes compartí aulas e  
hicimos una gran amistad, así  
pasen los años siempre estarán en  
mi memoria.*

## **DEDICATORIA**

*Con mucho cariño a mis Padres y hermana*

*Por su confianza, amor, dedicación, sacrificio y apoyo en todas las etapas de mi vida, haciendo de mí, una persona de bien y motivándome incondicionalmente en todo momento para no darme por vencido y seguir adelante.*

*A ustedes mi eterno agradecimiento*

## RESUMEN

El presente trabajo de investigación es de tipo experimental, enfoque cuantitativo y de corte transversal. Se realizó con el objetivo de determinar el efecto antimicótico *in vitro* del extracto etanólico del fruto de *Vaccinium corymbosum* (arándano) sobre *Candida albicans*. Se utilizaron veinte placas con agar saboraud que contenían el cultivo fúngico divididas en cuatro grupos de trabajo denominadas, grupo experimental 1 (450 mg/ml), grupo experimental 2 (900 mg/ml), grupo estándar (fluconazol 25 µg/disco), grupo blanco (solución salina fisiológica). La actividad antimicrobiana se evaluó mediante el método de Kirby-Bauer utilizando al tubo número 0,5 ( $1,5 \times 10^8$  U.F.C./ml) del nefelómetro de Mac Farland como patrón de turbiedad. En los resultados se evidencio la presencia de halo de inhibición en los grupos experimentales, siendo mayor en la concentración de 900 mg/ml con un diámetro promedio de 14,95 mm, con respecto a la concentración de 450 mg/ml que presento un diámetro promedio de 11,1 mm, el cual no logro ser mayor que los diámetros promedios de los halos de inhibición del grupo estándar de fluconazol con 28,4 mm, por lo cual se concluye que el extracto etanólico de *Vaccinium corymbosum* presento efecto antimicótico *in vitro* sobre *Candida albicans*, evidenciándose que a mayor concentración mayor efecto.

Palabra clave: *Candida albicans*, Efecto antimicótico, *Vaccinium corymbosum*.

## ABSTRACT

The present research work is of experimental type, quantitative focusing and transversal cut. It was performed with the objective of determining the in vitro antifungal effect of the ethanolic extract of the fruit of *Vaccinium corymbosum* (cranberry) on *Candida albicans*. Twenty plates with saboraaud agar containing fungal culture were used divided into four work groups called, experimental group 1 (450 mg / ml), experimental group 2 (900 mg / ml), standard group (fluconazole 25 µg / disc), white group (physiological saline). The antimicrobial activity was evaluated by the Kirby-Bauer method using tube number 0.5 (1.5 x 10<sup>8</sup> U.F.C./ml) of the Mac Farland nephelometer as a turbidity pattern. The results showed the presence of inhibition halo in the experimental groups, being greater in the concentration of 900 mg / ml with an average diameter of 14.95 mm, with respect to the concentration of 450 mg / ml that presented an average diameter 11.1 mm, which failed to be larger than the average diameters of the inhibition halos of the standard fluconazole group with 28.4 mm, so it is concluded that the ethanolic extract of *Vaccinium corymbosum* presented an in vitro antifungal effect on *Candida albicans*, evidencing that the greater the concentration, the greater the effect.

Keyword: *Vaccinium corymbosum*, *Candida albicans*, antifungal effect.

## CONTENIDO

EQUIPO DE TRABAJO .....	ii
JURADO EVALUADOR .....	iii
AGRADECIMIENTO.....	iv
DEDICATORIA.....	v
RESUMEN.....	vi
ABSTRACT .....	vii
CONTENIDO.....	viii
ÍNDICE DE TABLAS.....	ix
ÍNDICE DE FIGURAS .....	x
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. REVISIÓN DE LA LITERATURA.....	6
2.1. Antecedentes .....	6
2.2. Bases Teóricas .....	10
III. HIPÓTESIS .....	13
IV. METODOLOGÍA .....	14
4.1. Diseño de la investigación.....	14
4.2. Población y Muestra.....	15
4.3. Definición y operación de las variables .....	17
4.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	18
4.5. Plan de análisis .....	20
4.6. Matriz de consistencia .....	21
4.7. Principios éticos.....	22
V. RESULTADOS .....	23
5.1. Resultados.....	23
5.2. Análisis de resultados.....	25
VI. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	27
6.1. CONCLUSIONES .....	27
ASPECTOS COMPLEMENTARIOS.....	28
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	29
ANEXOS.....	37



## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 01	Valores promedios del diámetro de los halos de inhibición del extracto etanólico de dos concentraciones de <i>Vaccinium corymbosum</i> (Grupo experimental) con el grupo estándar sobre <i>Candida albicans</i> .....	23
Tabla 02	Comparaciones entre los efectos antimicóticos del extracto etanólico de <i>Vaccinium corymbosum</i> a 450 mg/ml, 900 mg/ml y el efecto antimicótico de fluconazol sobre <i>Candida albicans</i> .....	24
Tabla 03	Valores del diámetro de los halos de inhibición en milímetros (mm) de los cuatro grupos estudiados del extracto etanólico del fruto de <i>Vaccinium corymbosum</i> sobre <i>Candida albicans</i> .....	38
Tabla 04	Análisis fitoquímico del extracto etanólico de <i>Vaccinium corymbosum</i> .....	44

## ÍNDICE DE FIGURAS

Fig 1. Frutos de <i>Vaccinium corymbosum</i> (arándano) utilizado en la preparación del extracto .....	39
Fig 2. Maceración del fruto de arándano en etanol al 70% .....	39
Fig 3. Filtración con bomba al vacío del macerado etanólico de arándano .....	40
Fig 4. Extracto etanólico de arándano .....	40
Fig 5. Cultivo de <i>Candida albicans</i> .....	41
Fig 6. Preparación del inóculo de <i>Candida albicans</i> .....	41
Fig 7. Siembra del inóculo de <i>Candida albicans</i> .....	41
Fig 8. Grupo Estándar Farmacológico – Fluconazol 25 µg por disco .....	42
Fig 9. Grupo Blanco (Control negativo) .....	42
Fig10 Halos de inhibición de las concentraciones del extracto etanólico de <i>Vaccinium corymbosum</i> sobre <i>Candida albicans</i> .....	42
Fig11. Certificación de la planta de <i>Vaccinium corymbosum</i> “arándano” otorgado por el Herbarium Truxilense (HUT) .....	43
Fig 12. Análisis fitoquímico del extracto etanólico de <i>Vaccinium corymbosum</i> .....	45

## I. INTRODUCCIÓN

Los seres humanos viven en completa armonía con seres microscópicos que no pueden ser visibles al ojo humano, y que no causan daño cuando las barreras del sistema inmune están intactas, pero cuando disminuyen las defensas como es el caso de un ser humano que posee en su organismo el virus de inmunodeficiencia humana, estos microbios que en un inicio no causaban daño, ahora si lo pueden hacer. Los microorganismos que se aprovechan de un organismo debilitado para causar daño se les llama seres oportunistas dentro de los cuales se encuentran hongos microscópicos del género *Candida*, siendo la levadura *Candida albicans* la especie predominante, provocando una enfermedad llamada candidiasis <sup>(1)</sup>.

La incidencia de candidiasis está en aumento y ha pasado a ser una enfermedad común en aquellos pacientes que tienen VIH o en aquellas personas que son sometidas a terapias inmunomoduladoras o antineoplásicas cuyas defensas se encuentran disminuidas. Las infecciones del género *Candida* más frecuentes son las que causan daño en boca y esófago. Esta enfermedad es la más frecuente en pacientes con VIH y se estima que el mayor porcentaje de infectados por VIH van a padecer por lo menos una vez de enfermedades micóticas causados por *Candida albicans* <sup>(1,2)</sup>.

La candidiasis oral normalmente no es una enfermedad mortal, pero causa molestias, altera el gusto, ocasiona un dolor al ingerir los alimentos lo que conlleva a una disminución de peso y puede resultar peligrosa en pacientes con VIH que necesiten de una dieta hipercalórica o en pacientes hospitalizados o de edad avanzada inmunosuprimido <sup>(2)</sup>.

Hay un gran acceso a la mayoría de las medicinas tradicionales, la cual las vuelve más

atractivas en el contexto de atención de la salud. La medicina tradicional también se destaca como un vehículo para enfrentar el inacabable incremento de enfermedades crónicas no transmisibles <sup>(3)</sup>.

Arándano es una baya que crece en forma silvestre y posee principios activos con poder terapéutico como flavonoides, antocianinas, taninos, etc, ubicados en piel y semillas, esto le convierte a este fruto como un producto rico en nutrientes y con propiedades medicinales <sup>(4)</sup>.

El arándano es utilizado como un potente diurético, el extracto seco de frutos y hojas sirve para combatir cuadros diarreicos, verificar los niveles de azúcar en el plasma sanguíneo, en afecciones oculares, posee una sustancia química que reduce las concentraciones de una sustancia ligada al Alzheimer. Este fruto tiene un efecto antioxidante neutralizando los radicales libres que se liberan en el interior de nuestras células, y son nocivos para la salud humana, también posee acción antibacteriana, y antifúngica inhibiendo el crecimiento antimicrobiano <sup>(5,6)</sup>.

En las últimas décadas se ha observado en pacientes inmunocomprometidos infecciones causadas por *Candida albicans* y otras especies del mismo género. Las afecciones por especies del género *Candida* a la cavidad orofaríngea, es lo que más se ha observado en pacientes infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana, siendo el fluconazol un antimicótico con una biodisponibilidad de más del 90% cuando es administrado por vía oral, este antifúngico resulta ideal para infecciones por *Candida albicans* pero su amplio uso ocasiona que surjan microorganismos resistentes y conlleven al fracaso de la terapia <sup>(7,8,9)</sup>.

Las incidencias de candidiasis en algunos países señalan que, en Noruega, Dinamarca, Islandia hubo un incremento en la incidencia de candidiasis de 2 a 3/100.000 habitantes por año. En Italia y España se realizó el estudio en cinco nosocomios entre el 2008 y 2010, de 995 casos en los cuales dieron resultados positivos para *Candida* y se encontró una incidencia de 1,55/1000 admisiones hospitalarias. En Corea del Sur la incidencia fue de 29/100.000 habitantes por año. Entre el 2001 y 2004, en Australia, de 1095 casos se encontró una incidencia de 1,81/100.000 habitantes por año. En Latinoamérica, entre el 2008 al 2010 se encontró una incidencia por 1.000 camas hospitalarias/año de 1,95 en Argentina, 1,72 en Venezuela, 1,38 le corresponde a Honduras, 0,90 le corresponde a Ecuador, mientras que a Chile le corresponde 0,33<sup>(10)</sup>.

Los estudios realizados en Perú sobre candidemia son pocos, entre los años 2004 al 2006 en la ciudad de Lima, en los hemocultivos analizados se halló el género *Candida* en un 11,6%. En otro estudio realizado entre los años 2009 al 2011, en nueve nosocomios de Lima se hallaron 153 especies del género *Candida* que fueron las responsables de candidemia, mientras que investigaciones realizadas del 2013 al 2015 se encontró 158 aislamientos con una incidencia de candidemia de 1 a 2,6 casos por 1000 ingresos <sup>(11)</sup>.

Existen investigaciones realizadas con *Vaccinium corymbosum* (arándano) que demostraron tener efecto antibacteriano sobre *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* <sup>(12)</sup>.

El trabajo de investigación realizado se considera importante porque busca aportar nuevos conocimientos sobre *Vaccinium corymbosum* como una opción

complementaria a los tratamientos farmacológicos de *Candida albicans* en los pacientes inmunosuprimidos, ya que, en la actualidad, este hongo oportunista se está volviendo resistente a ciertos antimicóticos, abriendo la posibilidad de que se continúen más estudios sobre esta planta y en algún momento llegar a utilizarlo en vivo, siendo el arándano un alimento fácil de conseguir y está al alcance de la economía del ser humano.

La presente investigación pretende conocer si *Vaccinium corymbosum* (arándano) tiene efecto antimicótico sobre *Candida albicans* que es la responsable de candidiasis en pacientes inmunodeprimidos. Por lo tanto, se formuló el siguiente problema de investigación: ¿Presenta efecto in vitro el extracto etanólico del fruto de *Vaccinium corymbosum* (arándano) sobre *Candida albicans*?

## **OBJETIVOS**

### **OBJETIVO GENERAL:**

- Determinar el efecto antimicótico *in vitro* del extracto etanólico del fruto de *Vaccinium corymbosum* (arándano) sobre *Candida albicans*.

### **OBJETIVOS ESPECÍFICOS:**

- Evaluar el efecto antimicótico del extracto etanólico del fruto de *Vaccinium corymbosum* a las concentraciones de 450 mg/ml y 900 mg/ml sobre *Candida albicans*.
- Determinar la concentración del extracto etanólico del fruto de *Vaccinium corymbosum* de mayor efecto antimicótico.
- Comparar el efecto antimicótico *in vitro* del extracto etanólico de *Vaccinium corymbosum* y el efecto antimicótico de fluconazol 25 µg sobre *Candida albicans*.

## II. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1. ANTECEDENTES

Musmeci et al; en el 2013, Paraguay, determinaron el efecto antimicrobiano in vitro del *Aloe vera* (L.) Burm y *Aloe arborescens*, sobre *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Candida albicans* empleando el método de Kirby Bauer en 20 muestras. Utilizaron el gel de sábila siendo tratados con 10 ml de etanol al 70 %, 50 % y una solución acuosa al 50 % frente a las bacterias en estudio a diferentes concentraciones de inóculos teniendo en cuenta el nefelómetro de Mac Farland de los tubos número 0,5, 1 y 2. Obtuvieron que en las soluciones acuosas de sábila no hubo inhibición del crecimiento bacteriano ni micótico, pero si en las soluciones etanólicas del gel de *Aloe vera* pero no en *Aloe arborescens*. Concluyeron que *Aloe vera* tiene poder inhibitorio bacteriano y micótico en comparación con *Aloe arborescens* que no lo presenta <sup>(13)</sup>

Valle et al.; en el 2014, en la ciudad de Trujillo, determinaron el efecto del extracto hidroalcohólico de hojas de *Piper aduncum* "matico" sobre *Candida albicans*. Utilizaron la técnica de Kirby Bauer, en la cual los discos se impregnaron con concentraciones del extracto a 13,6mg/dl (10µl), 27,2mg/dl (20µl), 40,8mg/dl (30µl), 54,4mg/dl (40µl), y obtuvieron como resultados que 7mm para 13,6 mg/dl (10µl), 8,4mm para 27,2mg/dl (20µl), 10,2mm para 40,8mg/dl (30µl), 13,8mm para 54,4mg/dl (40µl). Llegaron a la conclusión que el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Piper aduncum* "matico" inhibe el crecimiento de *Candida albicans* <sup>(14)</sup>.

Benites et al; en el 2015 en Perú, compararon el efecto antimicrobiano del extracto etanólico de cuatro concentraciones de *Caesalpinia spinosa* (tara) sobre *Candida*



*albicans*, ellos prepararon su inóculo basándose al tubo 0,5 del nefelómetro de Mac Farland, y demostraron la susceptibilidad de *Candida albicans* por medio del método de difusión en disco de Kirby Bauer, utilizando las cuatro concentraciones del extracto etanólico de tara, luego se observó la presencia de halos de inhibición, concluyendo que el extracto etanólico de *C. spinosa* posee efecto inhibitorio sobre *Candida albicans*<sup>(15)</sup>.

Espindola et al; en el 2015 en Perú, se propusieron evaluar el efecto antifúngico del extracto etanólico de las hojas de *Bixa Orellana* L "Achiote" sobre *Candida albicans* ATCC 10231. A partir del extracto seco de las hojas de "achiote" se prepararon las concentraciones de 5% (50mg/ml), 50% (500mg/ml), 75% (750 mg/ml) y 100% (1000 mg/ml) disueltas en etanol a 70°. Para evaluar la actividad antifúngica se usó el método de Kirby Bauer y la determinación de la concentración mínima inhibitoria, se expuso la *Candida* a cinco concentraciones del extracto y se usaron grupos controles como fluconazol y solución salina fisiológica. En los resultados obtuvieron que *Candida albicans* fue sensible a las concentraciones de 50%, 75% y 100%, con halos de 11,6, 16,1 y 33,8 mm respectivamente, por lo tanto, concluyeron que el extracto etanólico de las hojas de *Bixa orellana* L. "Achiote" si tiene efecto antifúngico sobre *Candida albicans* ATCC 10231 <sup>(16)</sup>.

Angel et al. en el año 2015 en Perú evaluaron el efecto del extracto de *Vaccinium corymbosum* sobre el crecimiento de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. Trabajaron con tres concentraciones de extracto de arándano 50%, 75% y 100%, el inóculo de las bacterias se comparó con el tubo número 0,5 del nefelómetro de Mac Farland y utilizaron la técnica de Kirby Bauer. Los resultados obtenidos indica que

hay mayor efecto inhibitorio del extracto de arándano a la concentración del 100% siendo mejor el efecto inhibitorio sobre *Staphylococcus aureus* que *Escherichia coli*, concluyendo que el extracto de *Vaccinium corymbosum* tiene mejor efecto sobre *Staphylococcus aureus* a la concentración del 100% <sup>(12)</sup>.

Lalaleo et al.; en el 2016, en la ciudad de Quito, evaluaron el efecto inhibitorio del extracto alcohólico de *Vaccinium floribundum* (mortiño) sobre *Streptococcus mutans*, trabajaron con cuatro concentraciones de 25%, 50%, 75% 100%, la turbidez del inóculo de la bacteria se comparó con el tubo número 0,5 del nefelómetro de Mac Farland y utilizaron la técnica de Kirby Bauer, ellos encontraron que a la concentración de 25% hubo un halo de 13 mm , y conforme se iba aumentando la concentración del extracto, el halo de inhibición era más pequeño, y concluyeron que a menor concentración de extracto de mortiño mejor efecto inhibitorio sobre *Streptococcus mutans* <sup>(17)</sup>.

Villavicencio et al; en el 2016 en Perú, evaluaron el efecto antimicótico in vitro del aceite esencial de *Origanum vulgare* frente a cepa de *Candida albicans*, seleccionaron cuatro diferentes geotipos de orégano y obtuvieron los aceites esenciales por medio del proceso de destilación por arrastre con vapor de agua, evaluándose in vitro el efecto antimicótico del aceite esencial por pruebas de sensibilidad con el método de difusión por discos en cultivo frente a *Candida albicans*. En los resultados se observa efecto antimicótico del aceite esencial a partir de la concentración 12,5%, concluyeron que el aceite esencial de orégano tiene efecto antimicótico sobre *C. albicans* en concentraciones de 12,5%, 25%, 50% y 100% <sup>(18)</sup>.

Adrianzen et al; en el 2017 en Perú, evaluaron el efecto del zumo de *Vaccinium corymbosum* (arándano) sobre el crecimiento in vitro de *Escherichia coli*, realizaron

un inóculo de su bacteria teniendo en cuenta el nefelómetro de Mac Farland del tubo número 0,5 y determinaron el efecto bactericida e inhibitorio de *E. coli* mediante cuatro concentraciones del zumo de arándano 5%, 25%, 50%, 100% utilizando al ciprofloxacino como control. Para el efecto bactericida utilizaron el método de agar en placa y para el efecto inhibitorio usaron el método de dilución en caldo Muller Hinton. Obtuvieron que a la concentración del 100% del zumo vegetal hubo efecto bactericida, mientras que para el efecto inhibitorio encontraron que a la concentración del 100% hubo mayor efecto con respecto a las demás concentraciones, concluyendo que el zumo de *V. corymbosum* tiene efecto mínima bactericida sobre *E. coli* al 100% y a la vez a esta misma concentración hay mayor efecto inhibitorio <sup>(19)</sup>.

Cahuana et al.; en el 2017 en la ciudad de Puno-Perú determinaron el efecto inhibitorio del extracto etanólico de *Eucalyptus globulus* sobre *Streptococcus mutans* y *Candida albicans*. Ellos trabajaron con concentraciones de su extracto etanólico al 25%, 50%, 75% y 100%, utilizando como técnica la prueba de difusión de pocillos con discos de papel de filtro combinado y por el método de Kirby Bauer. Los resultados que obtuvieron fue que el extracto tiene actividad inhibitoria frente a *Streptococcus mutans* con promedios de halos de 11,85 mm, 13,3 mm, 13,97 mm, 15,54 mm para las concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% respectivamente, así como también lograron demostrar efecto antimicótico contra *Candida albicans* evidenciándose halos de inhibición de 9,34 mm, 10,41 mm, 11,39 mm, 12,45 mm para las concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% respectivamente. Concluyeron que el extracto de *Eucalyptus globulus* presenta efecto inhibitorio para *Streptococcus mutans* y *Candida albicans* <sup>(20)</sup>.

## 2.2. BASES TEÓRICAS

### **Fitoterapia:**

Es la ciencia que se encarga del uso de los productos vegetales con una finalidad terapéutica para prevenir o curar una enfermedad <sup>(21)</sup>.

### **Droga vegetal:**

Es una parte del vegetal que contiene el principio activo con efecto terapéutico, estos principios activos lo podemos encontrar en la corteza, hojas, raíces, frutos, etc <sup>(22)</sup>.

### **Principio activo:**

Es una sustancia química extraído de una droga vegetal que es responsable de la actividad farmacológica y del uso terapéutico <sup>(22)</sup>.

### **Extracto alcohólico:**

Es la extracción por maceración o percolación del principio activo utilizando como solvente a un alcohol como el etanol, el cual sucesivamente es expulsado por procedimientos físicos <sup>(23)</sup>.

### ***Vaccinium corymbosum***

#### **Habitad:**

Esta planta es oriunda de los lugares fríos de Norteamérica, pero también se ha encontrado especies en lugares tropicales <sup>(24)</sup>.

#### **Descripción botánica:**

La planta de arándano es un arbusto que puede llegar a tener una altura de 2,5m. Posee hojas alternas con borde dentado y cuando la estación le es desfavorable, las hojas se desprenden, y vuelven a crecer cuando la estación le es favorable, por esta razón se les llama hojas caducas, sus flores son acampanadas de color

blanco rosa, el fruto es una baya de 1 a 3 cm, de color negro azuladas <sup>(25)</sup>.

**Principios activos:**

El fruto de arándano posee alcanos, alquenos, alcanol, benzenoides, fenilpropanoides, flavonoides, monoterpene, sesquiterpene, triterpene <sup>(26)</sup>.

**Propiedades terapéuticas:**

Desde hace muchos siglos se usaba el arándano para aliviar el escorbuto y alteraciones en estómago e hígado. En la actualidad se utiliza para prevenir infecciones de las vías urinarias, así como también para inhibir la adhesión de *Helicobacter pylori* a las paredes del estómago, también posee propiedad anticancerígena, para enfermedades cardiovasculares, caries dental, es antiséptica <sup>(27)</sup>.

***Candida albicans***

**Etiopatogenia:**

La enfermedad es producida por levaduras anascoporadas, y se conocen más de 190 especies, siendo solo patógenas: *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida krusei*, *Candida kefyr*, *Candida zeylanoides*, *Candida pseudotropicali*, *Candida rugosa*, *Candida parapsilosis*, *Candida tropicalis*, y *Candida lusitanae*, todas ellas son cosmopolitas. Este género son levaduras pertenecientes al reino fungi que producen filamentos <sup>(28)</sup>.

**Candidiasis:**

Es una micosis producida por microorganismos levaduriformes endógenos y que se aprovechan del organismo debilitado para causar daño, entre estas tenemos a *Candida albicans*. La sintomatología es localizada o sistémica, puede verse comprometida la piel, mucosas, órganos internos. Los cambios

histopatológicos van desde inflamación mínima hasta supuración o granuloma (28).

### **Mecanismos de virulencia:**

Esta levadura tiene la capacidad de penetrar tejidos y eludir la fagocitosis, haciendo pensar que posee factores de virulencia los cuales son: proteinasas, esterases, proteasas aspárticas secretoras, fosfolipasas, capacidad de adherencia a las superficies de las células del hospedero y la producción del tubo germinativo. Las fosfolipasas catalizan la producción de fosfolípidos el cual es el componente de la membrana celular, lo que facilita su introducción en la célula, lo cual indica que existe una relación de la existencia de fosfatasa con la capacidad de patogenicidad de *Candida albicans*. Algunos científicos han manifestado que las fosfolipasas y las proteinasas de esta levadura podrían servir para bajar su actividad y así disminuir la virulencia sin ser destruido el hongo. Otros factores de virulencia como el tubo germinativo se asocian con la capacidad invasiva del hongo permitiéndole invadir tejidos y evadir la fagocitosis (29).

### **Tratamiento farmacológico:**

Azoles en este grupo están fluconazol, itraconazol, ketoconazol, de estos el fluconazol es el fármaco ideal para candidiasis, pero posee poca actividad sobre *C. glabrata*. El fluconazol tiene una biodisponibilidad del 100%, se elimina por riñón en forma de fármaco activo, mientras que itraconazol se absorbe poco, difunde mal en tejidos siendo la excepción el que se acumula en uñas y piel debido a su poder lipofílico, posee metabolismo hepático y se excreta en su forma no activa (30).

### **III. HIPÓTESIS**

#### **3.1. Hipótesis Alternativa (H<sub>1</sub>):**

El extracto etanólico de *Vaccinium corymbosum* “arándano” tiene efecto antimicótico in vitro sobre *Candida albicans*.

#### **3.2. Hipótesis Nula (H<sub>0</sub>):**

El extracto etanólico de *Vaccinium corymbosum* “arándano” no tiene efecto antimicótico in vitro sobre *Candida albicans*.

## **IV. METODOLOGÍA**

### **4.1. Diseño de la investigación:**

El presente trabajo corresponde al tipo de una investigación experimental, de enfoque cuantitativo y corte transversal, para lo cual se formaron los siguientes grupos:

#### **Grupo Control Negativo (Blanco)**

Se utilizó 05 placas Petri con medio de cultivo de Agar saboraud y el cultivo de *Candida albicans*. Se utilizó la técnica de Kirby Bauer. Se colocaron 4 discos conteniendo solución salina fisiológica, incubado por 24h en una temperatura 35°C – 37°C. Se realizó la lectura a las 24 h.

#### **Grupo Estándar Farmacológico**

Se utilizó 05 placas, como medio de cultivo de Agar saboraud y el cultivo de *Candida albican*. Se hizo uso de la técnica de Kirby Bauer. Se colocó 4 discos conteniendo solución de Fluconazol (25ug/disco), incubado por 24 h. en una temperatura 35°C – 37°C. Se realizó la lectura a las 24 h.

#### **Grupo experimental 01**

Se utilizó 05 placas Petri con medio de cultivo de Agar saboraund y el cultivo de *Candida albicans*. Utilizando la técnica de Kirby Bauer se colocó 4 discos conteniendo solución de *Vaccinium corymbosum* (Extracto al 450mg/ml), incubado por 24 h. en una temperatura 35°C - 37°C. Se realizó la lectura a las 24 h.

#### **Grupo experimental 02**

Se utilizó 05 placas, como medio de cultivo de Agar saboraud y el cultivo de *Candida albicans*. Utilizando la técnica de Kirby Bauer se colocó 4 discos conteniendo solución de *Vaccinium corymbosum* (Extracto al 900 mg/ml), incubado por 24 h. en una temperatura 35°C - 37°C. Se realizó la lectura a las 24 h.



## **4.2. Población y Muestra**

### **Población vegetal:**

### **Recolección:**

La planta de *Vaccinium corymbosum* fue recolectada de la provincia de Virú y transportada en bolsa de primer uso para su identificación taxonómica en el Herbarium Truxillense de la Universidad Nacional de Trujillo.

### **Selección:**

Los frutos de arándano fueron retirados de la planta para luego ser procesados.

### **Muestra vegetal:**

Fruto de *Vaccinium corymbosum* (Arándano)

### **Criterios de inclusión:**

Se tendrá en cuenta los siguientes criterios:

- El fruto de *V. corymbosum* este entero.
- Debe estar maduro.
- El fruto trabajado se cultive en la misma zona en la que pertenece la muestra.

### **Criterios de exclusión:**

No se tendrá en cuenta los siguientes criterios: La planta recientemente haya sido fumigada.

La planta haya sido atacada por plagas.

### **Material Biológico:**

Población: *Candida albicans*

Muestra: Cultivo de *Candida albicans*

### **Criterios de inclusión:**

Cultivos rejuvenecidos

Cultivos no contaminados.

**Criterios de exclusión:**

Cultivos con presencia de contaminantes.

### 4.3. DEFINICIÓN Y OPERACIÓN DE LAS VARIABLES

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Indicadores	Dimensión
Variable Independiente				
Extracto etanólico de <i>Vaccinium corymbosum</i> .	Extracción del principio activo utilizando como solvente el etanol.	Se utilizó concentraciones del extracto etanólico.	Concentraciones de: 450mg/ml y 900mg/ml	Cuantitativa de razón
Variable Dependiente				
Efecto antimicótico sobre <i>Candida albicans</i>	Es la susceptibilidad que tiene el microbio frente a un fármaco o a un principio activo de un vegetal.	Se determinó por medio de halos de inhibición.	Diámetro de halos de inhibición en milímetros.	Cuantitativa de razón.

#### **4.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos:**

##### **Material vegetal y obtención del extracto:**

Se lavó los frutos de arándano con agua destilada, para luego desinfectarlo con hipoclorito de sodio al 0,5%. Luego se enjuagó con agua destilada estéril.

##### **Preparación del extracto:**

De los frutos que fueron seleccionados se pesó aproximadamente 1000g y se homogenizaron en una licuadora durante 10 segundos. Luego se maceró con 1000 ml de etanol al 70% en un frasco de vidrio color ámbar. Se mezcló el extracto etanólico mediante agitación mecánica por 10 minutos y luego se almaceno en oscuridad a temperatura ambiente por 7 días, con agitación mecánica diaria por cinco minutos. Después de haber transcurrido el tiempo de maceración, se filtró el líquido al vacío con papel filtro whatman N° 1. A este líquido filtrado obtenido se le llamó extracto etanólico. El extracto etanólico obtenido se colocó en bandejas de vidrio y se llevó a evaporar el alcohol a una estufa de circulación de aire a 40°C hasta obtener un extracto blando de arándano. A partir de este extracto blando se prepararon concentraciones de 450 mg/ml (45%) y 900mg/ml (90%). Estas concentraciones preparadas fueron guardadas en frascos de color ámbar en refrigeración a una temperatura de 4°C hasta su uso <sup>(31, 32)</sup>.

##### **Rejuvenecimiento del cultivo**

Para el rejuvenecimiento del cultivo de *Candida albicans* se utilizó el medio de agar saboraud estéril y se llevó a incubación a 37°C por 24 horas.

### **Preparación del inóculo:**

El inóculo del microorganismo fue preparado con solución salina estéril hasta obtener una suspensión equivalente a una turbidez al tubo N° 0,5 del estándar de Mc Farland<sup>(33)</sup>.

### **Sembrado del microorganismo**

Después de 15 minutos al ajuste de la turbidez del inóculo, se sumergió un hisopo estéril en la suspensión del inóculo de 0,5 de McFarland, y se retiró el exceso del inóculo rozando el hisopo por la pared interior del tubo de ensayo por encima del nivel del líquido. Luego se realizó el sembrado del inóculo sobre la superficie del agar saboraud girando la placa Petri en tres direcciones. Dejar secar la placa por 5 minutos (34, 35).

### **Método de difusión de discos**

El método más común en la evaluación de la actividad antimicrobiana es el ensayo Kirby – Bauer. Se prepararon discos de papel de filtro estéril con un diámetro de 6 mm, lo cuales fueron sumergidos dentro de cada una de las concentraciones del extracto etanólico y después con aguja estéril se colocó cuatro discos por placa de modo que estén a una distancia aproximada de 25 mm uno del otro <sup>(35)</sup>. Se usaron como grupos controles, discos de fluconazol y solución salina fisiológica estéril. Posteriormente las placas se incubaron a 37°C durante 24 horas.

### **Medición de los halos de inhibición:**

Se midió la zona de inhibición de cada disco contra una superficie oscura bajo luz reflejada. Se midió el diámetro de la zona incluyendo los 6mm del disco, con un vernier sobre el respaldo de la placa Petri. Una lectura de 6mm indica que no hay zona de inhibición (34, 35)

#### **4.5. PLAN DE ANALISIS**

Los resultados son presentados en tablas, utilizando el programa Excel Microsoft y el programa estadístico ANOVA y T-Student.

#### 4.6. MATRIZ DE CONSISTENCIA

Título de la investigación	Formulación del problema	Objetivos	Hipótesis	Tipo de investigación	Variables	Definición operacional	Indicadores y escala de medición	Plan de análisis
Efecto in vitro del extracto etanólico de <i>Vaccinium corymbosum</i> (arándano) sobre <i>Candida albicans</i>	¿Presenta efecto in vitro el extracto etanólico del fruto de <i>Vaccinium corymbosum</i> (arándano) sobre <i>Candida albicans</i>	<p><b>Objetivo general</b> Determinar el efecto antimicótico <i>in vitro</i> del extracto etanólico del fruto de <i>Vaccinium corymbosum</i> (arándano) sobre <i>Candida albicans</i>.</p> <p><b>Objetivos específicos</b> Evaluar el efecto antimicótico del extracto etanólico del fruto de <i>Vaccinium corymbosum</i> a las concentraciones de 450 mg/ml y 900 mg/ml sobre <i>Candida albicans</i> Determinar la concentración del extracto etanólico del fruto de <i>Vaccinium corymbosum</i> de mayor efecto antimicótico. Comparar el efecto antimicótico <i>in vitro</i> del extracto etanólico de <i>Vaccinium corymbosum</i> y el efecto antimicótico de fluconazol 25 µg sobre <i>Candida albicans</i>.</p>	<p><b>Hipótesis Alternativa (HA):</b> El extracto etanólico de <i>Vaccinium corymbosum</i> (arándano) tiene efecto antimicótico in vitro sobre <i>Candida albicans</i>.</p> <p><b>Hipótesis Nula (Ho):</b> El extracto etanólico de <i>Vaccinium corymbosum</i> (arándano) no tiene efecto antimicótico in vitro sobre <i>Candida albicans</i>.</p>	Tipo Experimental, in vitro, cualitativo o cuantitativo	Variable independiente	Extracto etanólico de <i>Vaccinium corymbosum</i> Es un extracto con olor peculiar, obtenido a partir del órgano de un vegetal por maceración en contacto con etanol al 70%	Dos concentraciones. Cuantitativa.	Prueba estadística anova y T-student
					Variable dependiente	Efecto antimicótico sobre <i>Candida albicans</i> Es la susceptibilidad que tiene el microbio frente a un fármaco o al principio activo de un vegetal.	Diámetro del halo de inhibición. Cuantitativa.	

#### **4.7. PRINCIPIOS ÉTICOS:**

En la presente investigación, se tuvo presente las normas de bioseguridad en laboratorio, garantizando la correcta manipulación del microorganismo desde la recepción hasta la culminación de la investigación <sup>(36)</sup>.

También se tuvo presente los principios éticos descritos en el código de ética para la investigación, versión 001 de la ULADECH, tales como:

**Justicia:** El investigador debe ejercer un juicio razonable, ponderable y tomar las precauciones necesarias para asegurarse de que sus sesgos, y las limitaciones de sus capacidades y conocimiento, no den lugar o toleren prácticas injustas <sup>(37)</sup>.

**Integridad científica:** La integridad o rectitud deben regir no sólo la actividad científica de un investigador, sino que debe extenderse a sus actividades de enseñanza y a su ejercicio profesional <sup>(37)</sup>.



## V. RESULTADOS

### 5.1. RESULTADOS

Tabla 01: Valores promedios del diámetro de los halos de inhibición del extracto etanólico de dos concentraciones de *Vaccinium corymbosum* (Grupo experimental) con el grupo estándar sobre *Cándida albicans*

GRUPOS	Halos de inhibición (mm)			Significancia de los halos de inhibición
	Promedio	Desviación estándar		
	X	±	D.S	
Blanco (solución fisiológica)	6.0	±	0.0	0.00
Estándar (fluconazol 25 µg)	28.4	±	2.93	
Experimental 1 (450 mg extracto etanólico/ml agua destilada)	11.1	±	1.12	
Experimental 2 (900 mg extracto etanólico/ml agua destilada)	14.95	±	0.69	

ANVA (P < 0,05)

Tabla 02: Comparaciones entre los efectos antimicóticos del extracto etanólico de *Vaccinium corymbosum* a 450 mg/ml, 900 mg/ml y el efecto antimicótico de fluconazol sobre *Candida albicans*

GRUPOS n = 20	Significancia Valor P
Grupo Estándar (fluconazol) vs Grupo Experimental 1 (450 mg de extracto etanólico/ml agua destilada)	0.001
Grupo Estándar (fluconazol) vs Grupo Experimental 2 (900 mg extracto etanólico/ml agua destilada)	0,013
Grupo Experimental 1 (450 mg extracto etanólico/ml agua destilada) vs Grupo Experimental 2 (900 mg extracto etanólico/ml agua destilada)	0.001

T-student ( $p < 0,05$ )

Leyenda:

n = Numero de muestras en cada grupo.

## 5.2. ANÁLISIS DE RESULTADOS

En la tabla 01, se muestra los promedios por grupo, se puede observar que el grupo control negativo (blanco) tiene una medida de 6 mm que corresponde al diámetro del sensidisco. En el grupo 2 que corresponde al grupo estándar (fluconazol) se muestran un promedio en el halo de inhibición  $28.4 \pm 2.93$  mm esto concuerda por lo reportado por el Instituto de Estándares Clínicos de Laboratorio, CLSI, que reporta como estándar de referencia para *C. albicans* con un fármaco de referencia fluconazol, el valor mayor a 14 mm como punto de corte para establecer la sensibilidad antimicótica. El promedio de los halos de inhibición para los grupos experimentales del extracto etanólico de *Vaccinium corymbosum* a la concentración de 450mg/ml fue de  $11.1 \pm 1.12$ , y a la concentración de 900mg/ml fue de  $14.95 \pm 0.69$ . El promedio del halo de inhibición del grupo experimental que presenta una concentración de 450 mg/ml es inferior a 14 mm en comparación con fluconazol, el cual nos indica que para la existencia de sensibilidad antimicótica tiene que ser superior a dicho valor. En el grupo experimental que tiene una concentración de 900mg/ml el valor del promedio del halo de inhibición es mayor a 14, lo cual indica que se encuentra dentro del rango de sensibilidad en comparación con fluconazol. La prueba de Análisis de Varianza (ANVA) muestra una diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0.05$ ) en la comparación de grupos <sup>(34)</sup>.

En la tabla 02 se presentan los valores para la comparación con la prueba T – Student; a las 24 horas de incubación el valor de  $p < 0.05$  para todas las comparaciones esto indica que los valores comparativos obtenidos entre los grupos muestran una diferencia estadísticamente significativa para la comparación del grupo estándar fluconazol con los Grupos experimental 01 (450mg/ml) y Grupo experimental 02 (900mg/ml), en el

caso de los extractos de *V. corymbosum* 450mg/ml no se observa efecto antimicótico sin embargo a 900mg/ml si muestra halos de inhibición dentro del rango de sensibilidad dependiente de dosis.

*Vaccinium corymbosum* (arándano) en su estudio fitoquímico que se realizó para tener en cuenta que metabolitos secundarios son los responsables del efecto antimicótico, se encontró que posee compuestos fenólicos, flavonoides, antocianinas, taninos, saponinas, esto concuerda con lo encontrado por Reyes et al., en su investigación características farmacognóicas y cuantificación del contenido de polifenoles de arándano que encontró los mismos metabolitos secundarios realizados en la presente investigación <sup>(38)</sup>.

Para Moreno et al. en el año 2019, en su estudio sobre comparación in vitro del efecto antifúngico entre los extractos de romero y propóleos sobre cepas de *Candida albicans*, indica que los flavonoides son los responsables del efecto antimicótico <sup>(39)</sup>.

En la presente investigación el efecto antimicótico del extracto etanólico de *V. corymbosum* probablemente se debe a los polifenoles como los flavonoides, mediante la inhibición de la conversión dimórfica, ya sea inhibiéndose la generación de especies reactivas de oxígeno (ERO) en la formación del tubo germinativo, ya que Las EROs desempeñan una función importante durante la invasión e infección de tejidos, está demostrado en otros estudios que hay una relación entre la formación del tubo germinal y la adherencia de *C. albicans* a las células del epitelio de la mucosa, por lo cual este podría ser uno de los mecanismos de virulencia de esta levadura, el segundo mecanismo sería inhibiendo la degradación del glutatión, principal regulador no enzimático del equilibrio redox intracelular; durante la elongación de las hifas <sup>(40, 41)</sup>.

## VI. CONCLUSIONES

### 6.1. CONCLUSIONES

- Se determinó que el extracto etanólico del fruto de *Vaccinium corymbosum* presentó efecto antimicótico *in vitro* a la concentración de 900mg/ml siendo evidenciado por la prueba estadística Anova con  $p < 0.05$  al evaluar los grupos experimentales.
- Se determinó que a la concentración de 900mg/ml del extracto etanólico del fruto de *Vaccinium corymbosum* hubo un mayor efecto que a la concentración de 450 mg/ml
- El extracto etanólico del fruto de *Vaccinium corymbosum*, presentó efecto estadísticamente significativo frente al fluconazol que se utilizó como estándar farmacológico.

## **ASPECTOS COMPLEMENTARIOS**

- Continuar con estudios en el aislamiento de los principios activos de *Vaccinium corymbosum*.
- Realizar investigaciones en animales de experimentación para verificar la tolerancia y seguridad del extracto de *Vaccinium corymbosum*.
- Plantear diferentes formas de extracción de los principios activos, usando diferentes solventes.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Moran E, Ferreiro A. La candidiasis como manifestación bucal en el SIDA. Revista Cubana de Estomatología [Internet]; 2001 Ene. [citado el 16 de junio de 2017]; 38 (1): 1-13. Disponible en: <http://site.ebrary.com/lib/bibliocauladechsp/reader.Action?docID=10174933>
2. Aguirre J. Candidiasis orales. Rev. Iberoam Micol [Internet]; 2002; [citado el 16 de junio de 2017]; 19:17-21. Disponible en: <http://www.reviberoammicol.com/2002-19/017021.pdf>
3. Organización Mundial de la Salud. Estrategias de la OMS sobre medicina tradicional 2014-2023 [Internet]. China; Organización Mundial de la Salud; 2013.[citado el 16 junio 2017].Disponible en: <http://apps.who.int/medicinedocs/documents/s21201es/s21201es.pdf>
4. Ministerio de Agricultura y Riego. El arándano en el Perú y el mundo [Internet]; Perú; Ministerio de Agricultura y Riego; 2016. [citado el 16 junio 2017]. Disponible en: <http://repositorio.minagri.gob.pe/bitstream/handle/MINAGRI/415/Bolet%C3%ADn%20El%20Ar%C3%A1ndano.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
5. García J, García G. Orientaciones para el cultivo de arándano [Internet]; España; Proyecto de cooperación nuevos horizontes. [citado el 16 junio 2017] Disponible en: [http://www.naviaporcia.com/images/documentos/documento\\_173.pdf](http://www.naviaporcia.com/images/documentos/documento_173.pdf)
6. Vargas N, Sibaja L. Actividad antimicrobiana del arándano. Rev. Médica de Costa Rica y Centroamérica [Internet]; 2013; [citado el 17 de Junio de 2017]; 9-12; Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/revmedcoscen/rmc-2013/rmc131c.pdf>
7. Hernández F, Córdova E, Manzano P, López R, Bazán E, López R. Frecuencia de

- micosis en pacientes inmunosuprimidos de un hospital regional de la Ciudad de México. Salud Pública de México [Internet]; 2003 Nov-Dic. [citado el 24 de junio de 2017]; 45(6):1-11. Disponible en: [http://scielo.unam.mx/scielo.php?pid=S036-36342003000600005&script=sci\\_arttext](http://scielo.unam.mx/scielo.php?pid=S036-36342003000600005&script=sci_arttext)
8. Moreno J, Scerpella E, Rastogi A, Sasken H. Infecciones causadas por *Candida* spp. Resistente al fluconazol en pacientes con el síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA). Estados Unidos, Universidad de Miami. [citado el 24 de junio de 2017]; Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rmh/v6n3/v6n3cc2.pdf>
9. Gutiérrez C, De Bedout C, Tobón A, Cano L, Arango M, Tabares A, Restrepo A. Sensibilidad a fluconazol y voriconazol de aislamientos de *Candida* spp., obtenidos de mucosa oral de pacientes con sida. Asociación Colombiana de infectología [Internet]; 2007; [citado el 24 de junio de 2017]; 11(4):183- 189. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/242610307\\_Sensibilidad\\_a\\_fluconazol\\_y\\_voriconazol\\_de\\_aislamientos\\_de\\_Candida\\_spp\\_obtenidos\\_de\\_mucosa\\_oral\\_de\\_pacientes\\_con\\_sida](https://www.researchgate.net/publication/242610307_Sensibilidad_a_fluconazol_y_voriconazol_de_aislamientos_de_Candida_spp_obtenidos_de_mucosa_oral_de_pacientes_con_sida)
10. Lazo V., Hernández G., Méndez R. Candidiasis sistémica en pacientes críticos, factores predictores de riesgo. Horiz. Med. [Internet]; 2018 mar. [citado el 28 junio 2019]; 18 (1). Disponible en: [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1727-558X2018000100011](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1727-558X2018000100011)
11. Zurita S. Situación de la resistencia antifúngica de especies del género *Candida* en Perú. Rev. Peruana de Medicina Experimental y salud pública [Internet]. 2018. [citado el 28 junio 2019]; 35 (1). Disponible en: <https://rpmesp.ins.gob.pe/index.php/rpmesp/article/view/3563/2997>
12. Ángel J, Llenque L. “Efecto del extracto de *Vaccinium corymbosum* sobre el



- crecimiento de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* en condiciones de laboratorio 2014 [Tesis para optar el título profesional de Biólogo- Microbiólogo]. Trujillo. Universidad Nacional de Trujillo. 2015. [citado 07 julio 2017] Disponible en: <http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/4531/Angel%20Gutierrez,%20Jorge%20Sebastian.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
13. Musmeci R, Lezcano M. Acción antimicrobiana del gel de *Aloe vera* sobre *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Candida albicans*. Revista sobre estudios e investigación del saber académico [Internet]; 2013. [Citado el 07 de Julio de 2017]; 7 (7): 23-27. Disponible en: <http://publicaciones.uni.edu.py/index.php/eisa/article/view/37/25>
14. Valle B., Yanac A., Rengifo R. Efecto del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Piper aduncum* "matico" sobre el crecimiento de *Candida albicans* in vitro, procedente del distrito de Otuzco - La Libertad 2014 [Tesis para optar el grado académico de bachiller en Farmacia y Bioquímica]; Trujillo. Universidad Nacional de Trujillo. 2014. [citado el 07 julio 2017]. Disponible en: <http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/1611/Valle%20Vargas%2c%20Brenda%20Jakeline.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
15. Benites C, Mejía E. Efecto inhibitorio in vitro del extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* ("TARA") sobre cepa de *Candida albicans* ATCC90028 [Tesis para obtener el título de médico cirujano]; Trujillo. Universidad Privada Antenor Orrego.2015. [citado 07 julio 2017]. Disponible en: [http://repositorio.upao.edu.pe/bitstream/upaorep/1313/1/BENITES\\_CHRISTIAN\\_INHIBITORIO\\_IN%20VITRO\\_ETANOLICO.pdf](http://repositorio.upao.edu.pe/bitstream/upaorep/1313/1/BENITES_CHRISTIAN_INHIBITORIO_IN%20VITRO_ETANOLICO.pdf)

16. Espindola E., Mejia M. Efecto antifúngico in vitro del extracto etanólico de las hojas de *Bixa Orellana* L "achiote" sobre *Candida albicans* ATCC 10231 [Tesis para optar el título de Médico cirujano]. Perú. Universidad Privada Antenor Orrego. 2015. [citado 01 junio 2019]. Disponible en: [http://repositorio.upao.edu.pe/bitstream/upaorep/1736/1/RE\\_MED.HUMANA\\_BIXA.ORELLANA.L\\_FLU\\_CONAZOL\\_CALDIDA.ALBICANS\\_TESIS.pdf](http://repositorio.upao.edu.pe/bitstream/upaorep/1736/1/RE_MED.HUMANA_BIXA.ORELLANA.L_FLU_CONAZOL_CALDIDA.ALBICANS_TESIS.pdf)
17. Lalaleo M., Romero R. Efecto inhibitorio del extracto alcohólico de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth) sobre el *Streptococcus mutans* [Tesis para optar el Título de Odontología]. Quito. Universidad Central del Ecuador. 2016. [citado 20 septiembre 2018]. Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/7753/1/T- UCE-0015-392.pdf>
18. Villavicencio J., Moromi H., Salcedo D., Pineda M., Ramos D., Zambrano L., Martinez E., Mendoza G., Pelkova M., Bardales R. Efecto antimicótico in vitro de *Origanum vulgare* sobre cepas de *Candida albicans*. Rev. Odontología Sanmarquina. 2016 [citado 20 septiembre 2018]. 19 (2): 5-8. Disponible en: <https://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/odont/article/view/12907/11528>
19. Adrianzen J, Chiroque J. Efecto in vitro de zumo de *Vaccinium corymbosum* L. sobre *Escherichia coli* [Tesis I]. Trujillo. Universidad Nacional de Trujillo. 2017. [citado 20 septiembre 2018]. Disponible en: <http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/5841/Adrianzen%20Ramirez%20Ji%20lwer%20Joel%202017.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
20. Cahuana L., Condori T. Efectividad inhibitoria in vitro del extracto etanólico del *Eucalyptus globulus* sobre cepas de *Streptococcus mutans* y *Candida albicans*

- Puno 2017 [Tesis para optar el título profesional de cirujano dentista]. Puno. Universidad Nacional del Altiplano. 2017. [citado 25 junio 2019]. Disponible en: [http://repositorio.unap.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/4181/Cahuana\\_Pineda\\_Lizbeth\\_Vanessa\\_Condori\\_Cueva\\_Tania\\_Vaneza.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.unap.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/4181/Cahuana_Pineda_Lizbeth_Vanessa_Condori_Cueva_Tania_Vaneza.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
21. Cañiguera S, Dellacassa E, Bandoni A. Plantas Medicinales y Fitoterapia: ¿Indicadores de Dependencia o Factores de Desarrollo? *Lat. Am. J. Pharm.*[Internet]; 2003. [citado el 01 de Julio de 2017]; 22 (3): 265-278. Disponible en: [http://www.latamjpharm.org/trabajos/22/3/LAJOP\\_22\\_3\\_6\\_1\\_S966JS548J.pdf](http://www.latamjpharm.org/trabajos/22/3/LAJOP_22_3_6_1_S966JS548J.pdf)
  22. Kuklinski C. Farmacognosia. Barcelona: Ediciones omega. 2003.
  23. Gonzales A. Obtención de aceites esenciales y extractos etanólicos de plantas del Amazonas. [Internet]. Bogotá. Universidad Nacional de Colombia. 2004. [citado 01 julio 2017]. Disponible desde: <http://www.bdigital.unal.edu.co/1173/1/angelaandregonzalezvilla.2004.pdf>
  24. Hine A., Abdelnou A. Establecimiento in vitro de arándano. *Rev. Tec. En marcha.* [Internet]. 2013; [citado 01 julio 2017]. 26 (4): 64-71. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/285172994\\_Establecimiento\\_in\\_vitro\\_de\\_arandano\\_Vaccinium\\_corymbosum\\_L](https://www.researchgate.net/publication/285172994_Establecimiento_in_vitro_de_arandano_Vaccinium_corymbosum_L)
  25. García J. El cultivo de arándano en Asturias. Proyecto de cooperación nuevos horizontes [Internet]. [citado 01 julio 2017]. Disponible en: [http://www.naviaporcia.com/images/documentos/documento\\_173.pdf](http://www.naviaporcia.com/images/documentos/documento_173.pdf)
  26. Abreu O., Cuellar A., Prieto S. Fitoquímica del género *Vaccinium*. *Rev. Cubana de plantas medicinales* [Internet]. 2008. [citado 01 julio 2017]. 13 (3). Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S1028-47962008000300003&script=sci\\_](http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S1028-47962008000300003&script=sci_)

arttext&tlng=pt

27. Mira J. Proantocianidinas del arándano. Rev. Cient Dent [Internet]. 2017; [citado 01 julio 2017]. 14 (3):167- 172. Disponible en: [http://coem.org.es/sites/default/files/publicaciones/CIENTIFICA\\_DENTAL/vol14n um3/arandano.pdf](http://coem.org.es/sites/default/files/publicaciones/CIENTIFICA_DENTAL/vol14n um3/arandano.pdf)
28. Arenas R. Micología Médica ilustrada [Internet]; 4ª ed.; México; McGraw Hill. 2011. [citado 03 julio 2017]. Disponible en: <http://site.ebrary.com/lib/bibliocauladechsp/reader.action?docID=10779408>
29. Salas I, García J, Miranda K. Factores de virulencia en cepas de *Candida albicans*. Revista Cotarriquense de ciencias médicas [Internet]; 2000 Jun. [citado el 03 de julio de 2017]; 21(1). Disponible en: [http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0253-29482000000100004](http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0253-29482000000100004)
30. Del Mar Magariños M., Rodríguez C. Candidiasis. Tratado de Geriátria para residentes. [citado 03 julio 2017]. Disponible en: [file:///C:/Users/IE211/Downloads/S35-05%2044\\_III.pdf](file:///C:/Users/IE211/Downloads/S35-05%2044_III.pdf)
31. Avendaño G., Acevedo B. Microencapsulation process of natural dye from strawberry (*Fragaria vesca*). AVANCES Investigación en Ingeniería. 2014. 11 (1): 76-82.
32. Miranda M. Métodos de Análisis de Drogas y Extractos. Cuba. Instituto de Farmacia y Alimentos. Universidad de la Habana. 2002. [citado 03 Septiembre 2018]. Disponible en: <https://vdocuments.site/metodos-de-analisis-de-drogas-y-extractos-de-dra-migdalia-miranda-martinez.html>
33. Cavalieri S., Harbeck R., McCarter Y., Ortez J., Rankin I., Sautter R., Sharp S., Spiegel C. Manual de pruebas de susceptibilidad antimicrobiana. Estados Unidos. 2005.

34. Cantón E., Martín E., Espinel A. Métodos estandarizados por el CLSI para el estudio de la sensibilidad a los antifúngicos (documentos M27-A3, M38-A y M44-A). Revista Iberoamericana de Micología - ISBN: 978-84-611-8776-8. 2007. [Internet]. [Citado 21 Junio 2019]. Disponible en: <http://www.guia.reviberoammicol.com/Capitulo15.pdf>
35. Instituto Nacional de la Salud. Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión. Lima. 2002. [citado 10 octubre 2019]. Disponible en: <http://www.ins.gob.pe/insvirtual/imagenes/otrpubs/pdf/manual%20sensibilidad%202.pdf>
36. Protocolo de seguridad de laboratorios y talleres de la Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote. Versión 003. Chimbote-Perú. [citado el 11 Julio 2019]. Disponible en: [https://www.uladech.edu.pe/images/stories/universidad/documentos/2018/protocolo\\_seguridad\\_laboratorios\\_talleres\\_uladech\\_catolica\\_v003.pdf](https://www.uladech.edu.pe/images/stories/universidad/documentos/2018/protocolo_seguridad_laboratorios_talleres_uladech_catolica_v003.pdf)
37. Universidad católica los Ángeles de Chimbote. Código de Ética para la investigación versión 001 [Internet]. 2016. [Citado 29 junio de 2019]. Disponible en: <https://www.uladech.edu.pe/images/stories/universidad/documentos/2016/codigo-de-etica-para-la-investigacion-v001.pdf>
38. Reyes F., Vega K., Ruiz S. Características farmacognósticas y cuantificación del contenido de polifenoles totales del fruto de *Vaccinium corymbosum* L. "arándano" [Tesis para optar el grado académico de bachiller en Farmacia y Bioquímica]. Trujillo. Universidad Nacional de Trujillo, 2017. [citado 25 junio 2019]. Disponible en: <http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/9429/Reyes%20Penas%20Fiorella.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

39. Moreno G., Vásquez C. Comparación in vitro del efecto antifúngico entre los extractos hidroetanólicos de *Rosmarinus officinalis* (romero) y propóleos sobre cepas de *Candida albicans* ATCC 10231, Trujillo-2018. [Tesis para optar el título profesional de cirujano dentista]. Trujillo. Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote., 2019. [citado 25 junio 2019]. Disponible en: [http://repositorio.uladech.edu.pe/bitstream/handle/123456789/10690/CANDIDA\\_EXTRACTOS\\_MORENO\\_AREVALO\\_GINA\\_JULIANA.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.uladech.edu.pe/bitstream/handle/123456789/10690/CANDIDA_EXTRACTOS_MORENO_AREVALO_GINA_JULIANA.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
40. Kanwal Q, Hussain I, Latif H, Javaid A. Antifungal activity of flavonoids isolated from mango (*Mangifera indica* L.) leaves. *Nat prod resch* 2010; 24 (20): 1907-14. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21108117>
41. Candiracci M, Citterio B, Piatti E. Antifungal activity of the honey flavonoid extract against *Candida albicans*. *Food Chemistry* 2012; 131: 493–99.

# **ANEXOS**

## ANEXO 1

Tabla 03: Valores del diámetro de los halos de inhibición en milímetros (mm) de los cuatro grupos estudiados del extracto etanólico del fruto de *Vaccinium corymbosum* sobre *Candida albicans*

Grupo por placa	Repeticiones (R)	Diámetro de los halos de inhibición (mm) de los cuatro grupos			
		Grupo Experimental 1 (450 mg/ml)	Grupo Experimental 2 (900 mg/ml)	Grupo Estándar (25 µg)	Grupo Blanco
		<b>1</b>	R-01	12	15
	R-02	10	15	25	6
	R-03	08	14	30	6
	R-04	10	16	22	6
<b>2</b>	R-05	12	15	24	6
	R-06	12	15	30	6
	R-07	10	15	28	6
	R-08	12	14	30	6
<b>3</b>	R-09	11	15	32	6
	R-10	12	16	32	6
	R-11	10	15	28	6
	R-12	11	15	30	6
<b>4</b>	R-13	12	15	28	6
	R-14	12	14	30	6
	R-15	11	16	26	6
	R-16	12	15	32	6
	R-17	10	15	26	6
	R-18	12	14	32	6
<b>5</b>	R-19	12	16	28	6
	R-20	11	14	30	6
<b>Promedio</b>		11.1	14.95	28.4	6.00
<b>Desviación Estándar</b>		1.12	0.69	2.93	0.00

Leyenda: Un valor de 6mm indica que no hay zona de inhibición.



## ANEXO 2

Fig 1. Frutos de *Vaccinium corymbosum* (arándano) utilizado en la preparación del extracto



Fig 2. Maceración del fruto de arándano en etanol al 70%



Fig 3. Filtración con bomba al vacío del macerado etanólico de arándano



Fig 4. Extracto etanólico de arándano



Fig 5. Cultivo de *Candida albicans*



Fig 6. Preparación del inóculo de *Candida albicans*



Fig 7. Siembra del inóculo de *Candida albicans*



Fig 8. Grupo Estándar Farmacológico – Fluconazol 25 µg por disco

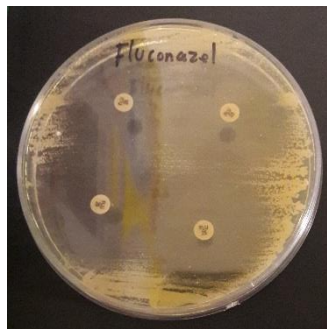


Fig 9. Grupo Blanco (Control negativo)



Fig 10. Halos de inhibición de las concentraciones del extracto etanólico de *Vaccinium corymbosum* sobre *Candida albicans*

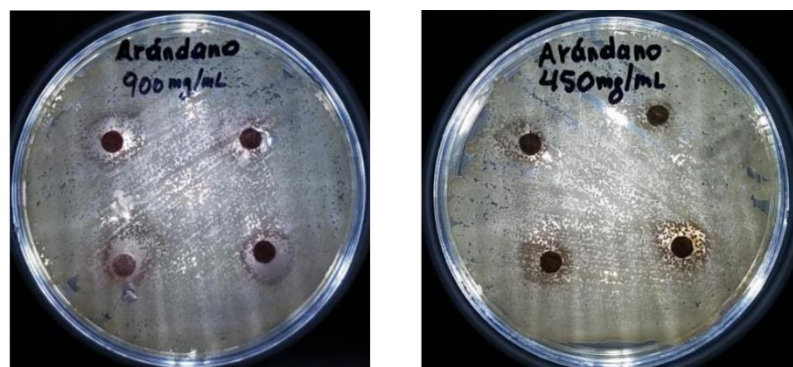


Fig 11. Certificación de la planta de *Vaccinium corymbosum* “arándano” otorgado por el Herbarium Truxilense (HUT)



### ANEXO 03

Tabla 04: Análisis fitoquímico del extracto etanólico de *Vaccinium corymbosum*

Metabolitos Secundarios	Ensayo	Intensidad	Identificación
Compuestos fenólicos	Cloruro férrico	++	+
Flavonoides	Shinoda	+++	+
Antocianina	Antocianina	+++	+
Taninos	Gelatina	+	+
Saponina	Espuma	+	+
Alcaloide	Dragendorff	-	-

Leyenda:

Intensidad: + Baja

++ Moderada

+++ Alta

Identificación: + Positivo

- Negativo

Fig 12. Análisis fitoquímico del extracto etanólico de *Vaccinium corymbosum*

