



---

UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES  
CHIMBOTE

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD  
ESCUELA PROFESIONAL DE ODONTOLOGÍA**

**COMPARACIÓN *in vitro* DEL EFECTO ANTIFÚNGICO  
ENTRE DOS CONCENTRACIONES DEL EXTRACTO  
HIDROETANÓLICO DE HOJA VERSUS EXTRACTO  
DE FLOR DE *Bidens pilosa* L. (CADILLO) SOBRE CEPAS  
DE *Candida albicans* ATCC 10231 -Trujillo 2019**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL  
DE CIRUJANO DENTISTA**

AUTOR

**TORO HUATANGARE, ANIBAL**

**ORCID:0000-0002-9660-6247**

ASESOR

**HONORES SOLANO, TAMMY MARGARITA**

**ORCID: 0000-0003-0723-3491**

**TRUJILLO – PERÚ**

**2022**

## **1. Título de la tesis**

**COMPARACIÓN *in vitro* DEL EFECTO  
ANTIFÚNGICO ENTRE DOS CONCENTRACIONES  
DEL EXTRACTO HIDROETANÓLICO DE HOJA  
VERSUS EXTRACTO DE FLOR DE *Bidens pilosa* L.  
(cadillo) SOBRE CEPAS DE *Candida albicans* ATCC  
10231 -Trujillo 2019**

2.

**Equipo de trabajo**

**AUTOR**

Toro Huatangare, Aníbal

ORCID: 0000-0002-9660-6247

Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote, Estudiante

de Pregrado, Trujillo, Perú

**ASESOR**

Honores Solano, Tammy Margarita

ORCID: 0000-0003-0723-3491

Universidad Católica Los Ángeles De Chimbote, Facultad

De Ciencias De La Salud, Escuela Profesional De

Odontología Trujillo, Perú

**JURADO**

De La Cruz Bravo, Juver Jesús

ORCID ID: 0000-0002-9237-918X

Loyola Echeverría, Marco Antonio

ORCID ID:0000-0002-5873-132X

Ángeles García, Karen Milena

ORCID ID: 0000-0002-2441-6882

### **3. Hoja de firma de jurado y asesor**

---

MGTR. DE LA CRUZ BRAVO, JUVEN JESÚS

**PRESIDENTE**

---

MGTR. LOYOLA ECHEVERRÍA, MARCO ANTONIO

**MIEMBRO**

---

MGTR. ÁNGELES GARCÍA, KAREN MILENA

**MIEMBRO**

---

MGTR. HONORES SOLANO, TAMMY MARGARITA

**ASESOR**

#### **4. Hoja de Agradecimiento y/o dedicatoria**

***A Dios:***

*Por haberme acompañado y guiado durante mi carrera profesional, por ser mi fortaleza en los momentos de debilidad y por brindarme una vida llena de aprendizajes, y sobre todo felicidad.*

***A mis padres y hermanos:***

*Por haberme dado la vida y una hermosa familia, gracias por su apoyo incondicional desde el inicio de mi formación como profesional brindándome un ejemplo de perseverancia y superación, amor y respeto a los demás.*

***A mis docentes:***

*Por su dedicación compromiso y desempeño en cada momento, brindándome los mejores conocimientos, siendo una guía para nuestra formación profesional.*

## **Dedicatoria**

*Mi tesis está dedicada en primer lugar a Dios por protegerme durante todo mi camino y a mis padres por darme la fuerza para superar obstáculos y dificultades en toda la vida.*

*A la universidad católica Los Ángeles De Chimbote especial a la Escuela Profesional de Odontología, por permitir ser parte de una generación de triunfadores y gente productiva para el país.*

*Un agradecimiento especial a los docentes, por la orientación y apoyo que me brindaron para realizar mi tesis, por sus enseñanzas durante mi formación profesional que me permitieron aprender mucho más para que en el futuro sea un profesional que me compete como cirujano dentista.*

## 5. Resumen

El **objetivo** de este trabajo de investigación fue comparar el efecto antifúngico entre dos concentraciones del extracto hidroetanólico de hoja versus flor de *Bidens pilosa* L. (Cadillo) sobre cepas de *Candida albicans* ATCC 10231 en el distrito de Trujillo, 2019. El **diseño** del estudio fue experimental, prospectivo, longitudinal y analítico. La población estuvo conformada por cepas de *Candida albicans* ATCC 10231 y la muestra conformada por 10 repeticiones para cada grupo de estudio, para lo cual se elaboraron extractos hidroetanólicos de las hojas y las flores de cadillo en concentraciones del 50 y 75% cada una, los cuales fueron expuestos sobre cepas de *Candida albicans* ATCC 10231 previamente activados y sembrados en un medio de cultivo. Para evaluar el efecto antifúngico se midieron los halos de inhibición en milímetros. La prueba estadística utilizada fue Kruskal – Wallis y Prueba Post hoc Duncan. **Los resultados** indicaron que, para el extracto de las hojas al 75% presentó un halo de inhibición de 29.65 mm, y al 50% obtuvo 18.78 mm; el extracto de la flor al 75% fue 14.67 mm y al 50% fue 14.09 mm. Según la prueba estadística se obtuvo  $P = 0.000$ , el cual demostró que hubo diferencias significativas. **En conclusión**, el extracto hidroetanólico de las hojas de *Bidens pilosa* al 75% presentó mayor efecto antifúngico que las demás concentraciones de la hoja y flor de cadillo.

**Palabras clave;** *Bidens pilosa*, *Candida Albicans*, efecto antifúngico.

## Abstract

The **objective** of this research work was to compare the antifungal effect between two concentrations of the hydroethanolic extract of leaf versus flower of *Bidens pilosa* L. (Cadillo) on strains of *Candida albicans* ATCC 10231 in the district of Trujillo, 2019. The study **design** was experimental, prospective, longitudinal and analytical. The population consisted of strains of *Candida albicans* ATCC 10231 and the sample made up of 10 repetitions for each study group, for which hydroethanolic extracts of cadillo leaves and flowers were elaborated in concentrations of 50 and 75% each, the which were exposed on strains of *Candida albicans* ATCC 10231 previously activated and seeded in a culture medium. To evaluate the antifungal effect, the inhibition halos were measured in millimeters. The statistical test used was Kruskal-Wallis and Post hoc Duncan Test. The **results** indicated that, for the extract of the leaves at 75%, it presented an inhibition halo of 29.65 mm, and at 50% it obtained 18.78 mm; the 75% flower extract was 14.67 mm and at 50% it was 14.09 mm. According to the statistical test,  $P = 0.000$  was obtained, which showed that there were significant differences. In **conclusion**, the hydroethanolic extract of the leaves of *Bidens pilosa* at 75% presented a greater antifungal effect than the other concentrations of the leaf and flower of cadillo.

**Keywords;** Antifungal effect, *Bidens pilosa*, *Candida albicans*.



## 6. Contenido

1. Título de la tesis.....	ii
2. Equipo de trabajo .....	iii
3. Hoja de firma de jurado y asesor .....	iv
4. Hoja de agradecimiento y/o dedicatoria .....	v
5. Resumen y abstract .....	vii
6. Contenido.....	ix
7. Índice de gráficos, tablas y cuadros .....	x
I.    Introducción .....	1
II.   Revisión de la literatura .....	5
III.  Hipótesis .....	20
IV.  Metodología .....	21
4.1 Diseño de la investigación .....	21
4.2 Población y muestra .....	21
4.3 Definición y operacionalización de variables.....	23
4.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos .....	24
4.5 Plan de análisis .....	30
4.6 Matriz de consistencia.....	31
4.7 Principios éticos .....	32
V.   Resultados .....	33
5.1 Resultados .....	33
5.2 Análisis de los resultados.....	38
VI.  Conclusiones .....	41
Aspectos complementarios... ..	42
Referencias bibliográficas.....	43
Anexos... ..	49

## 7. Índice de gráficos, tablas y cuadros

<b>Tabla 1.</b> Comparación <i>in vitro</i> del efecto antifúngico entre las concentraciones del extracto hidroetanólico de hoja versus extracto de flor de <i>Bidens pilosa L.</i> (cadillo) sobre <i>Candida albicans</i> ATCC 10231.....	31
<b>Tabla 2.</b> Comparación del efecto antifúngico entre dos concentraciones del extracto hidroetanólico de hoja versus extracto de flor de <i>Bidens pilosa L.</i> (cadillo) sobre <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 .....	32
<b>Tabla 3.</b> Comparación <i>in vitro</i> el efecto antifúngico del extracto hidroetanólico de hoja al 50% y al 75%, sobre <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 .....	33
<b>Tabla 4.</b> Comparación <i>in vitro</i> el efecto antifúngico del extracto de flor de <i>Bidens pilosa L.</i> (cadillo) al 50% y al 75%, sobre <i>Candida albicans</i> ATCC 10231.....	34
<b>Gráfico 1.</b> Comparación <i>in vitro</i> del efecto antifúngico entre las concentraciones del extracto hidroetanólico de hoja versus extracto de flor de <i>Bidens pilosa L.</i> (cadillo) sobre <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 .....	35

## I. Introducción

A nivel mundial, las infecciones micóticas conllevan a un serio problema ya que estas infecciones dañan a nivel sistémico y mucosas, acarrear un serio problema a los países en vías de desarrollo de zonas tropicales o subtropicales.<sup>1</sup>

La infección invasiva debido a las especies de *Candida* es en gran parte una condición asociada con el progreso médico, y es ampliamente reconocida como una de las principales causas de morbilidad y mortalidad en el entorno sanitario. Existen al menos 15 especies distintas de *Candida* que causan enfermedades humanas, pero el 90% de las enfermedades invasivas son causadas por cinco especies como son *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* y *C. krusei*. Cada uno de estos organismos tiene un potencial único de virulencia, susceptibilidad antimicótica y epidemiológica, pero en su conjunto, las infecciones significativas debidas a estos organismos generalmente se conocen como candidiasis invasiva.<sup>2</sup>

El más habitual son los patógenos, *Candida albicans* es la causante de la candidiasis en personas. *Candida albicans* se expresa en el organismo de tres formas: mucocutánea, cutánea y sistémica, donde la candidiasis de las mucosas perjudica la zona bucal y vaginal.<sup>1,2</sup>

*Bidens Pilosa L.* (cadillo), pertenece a la familia *Asteraceae*, esta planta posee un amplio efecto medicinal, tiene una utilidad general para tratar malestares. Las formas de preparar las hojas son en decocción o también en infusión, también se puede masticar para tratar patologías tales como

aftas orales, anginas, amigdalitis catarral, úlceras gastroduodenales, también como un empaste sobre alguna herida.<sup>3</sup>

*B. pilosa* tiene muchas aplicaciones de carácter medicinal, se demostró que el extracto etanólico posee una capacidad de combatir al *M. smegmatis* y *Mycobacterium tuberculosis*, Otros trabajos de investigación reportan que este extracto posee una actividad de nivel bajo frente al *E. coli* y *S. aureus*, también existen reportes que reflejan una actividad de nivel medio frente a microorganismo tales como *Bacillus cereus* y *Staphylococcus aureus*.<sup>4</sup>

Debido a que existen limitados estudios sobre el efecto antifúngico de esta planta medicinal se formuló el siguiente enunciado del problema, ¿Cuál es la diferencia al comparar *in vitro* el efecto antifúngico entre dos concentraciones del extracto hidroetanólico de hoja versus extracto de flor de *Bidens pilosa* L (cadillo) sobre cepas de *Candida albicans* ATCC 10231?

Asimismo, por todo lo citado anteriormente el propósito de la presente investigación fue comparar *in vitro* el efecto antifúngico entre dos concentraciones del extracto hidroetanólico de hoja versus extracto de flor de *Bidens pilosa* L. (cadillo) sobre cepas de *Candida albicans* ATCC 10231, en la provincia de Trujillo, 2019.

Como objetivos específicos fue evaluar *in vitro* el efecto antifúngico del extracto hidroetanólico de hoja de *Bidens pilosa* L. (cadillo) al 50% sobre cepas de *Candida albicans* ATCC 10231. Evaluar *in vitro*, el efecto antifúngico del extracto hidroetanólico de hoja de *Bidens pilosa*

*L.* (cadillo) al 75% sobre cepas de *Candida albicans* ATCC 10231. Evaluar *in vitro*, el efecto antifúngico del extracto hidroetanólico de flor de *Bidens pilosa* L. (cadillo) al 50% sobre cepas de *Candida albicans* ATCC 10231. Evaluar *in vitro*, el efecto antifúngico del extracto hidroetanólico de flor de *Bidens pilosa* L. (cadillo) al 75% sobre cepas de *Candida albicans* ATCC 10231.

Por otro lado, esta investigación se justifica debido a que con los resultados del estudio se pueden verificar que el extracto de dicha planta presenta efecto antifúngico en diferentes concentraciones, asimismo, se pueden elaborar productos de interés odontológico con el fin de disminuir las infecciones por *Candida albicans* en la población Trujillana. El estudio fue de diseño experimental, el cual se llevó a cabo en una población de cepas de *Candida albicans* ATCC 10231 y la muestra estuvo conformada por 10 placas Petri por cada grupo de estudio. Se elaboraron extractos hidroetanólicos de las hojas y las flores de cadillo en concentraciones del 50 y 75% cada una, los cuales fueron expuestos sobre cepas de *C. albicans* ATCC 10231 previamente activados y sembrados en un medio de cultivo. Para evaluar el efecto antifúngico se midieron los halos de inhibición en milímetros. Los resultados indicaron que, para el extracto de las hojas al 75% presentó un halo de inhibición de 29.65 mm, y al 50% obtuvo 18.78 mm; el extracto de la flor al 75% fue 14.67 mm y al 50% fue 14.09 mm. En conclusión, el extracto hidroetanólico de las hojas de *Bidens pilosa* al 75% presentó mayor efecto antifúngico que las demás concentraciones

de la hoja y flor de cadillo.

## II. Revisión de la literatura

### 2.1. Antecedentes

#### Internacionales

**Linhares M, et al.<sup>5</sup> (Brasil, 2018) Evaluación anti- Candida de aceites esenciales de tres especies de plantas medicinales (Astereaceae).** El **objetivo** del estudio fue determinar el efecto antifúngico del aceite esencial de *Bidens pilosa* frente a *Candida albicans*. El **diseño** del estudio fue experimental, el cual se llevó a cabo en cepas de *Candida albicans* ATCC 14057, los cuales fueron activados y sembrados previamente en un medio de cultivo y fueron expuestos al aceite esencial de hojas de *B. Pilosa* en aceites de hojas frescas y hojas secas. Para medir el efecto antifúngico se midió por medio de la Concentración Mínima Inhibitoria al 90% CMI y Concentración Mínima Fungicida CMF. Los **resultados** indicaron que la CMI para hojas frescas fue de  $64 \mu\text{g mL}^{-1}$ , mientras que la CMF también fue  $64.0 \mu\text{g mL}^{-1}$ , sin embargo, el aceite esencial de las hojas secas no presentó efecto alguno. En **conclusión**, el aceite esencial de las hojas frescas de *B. pilosa* presentó efecto antifúngico frente a cepas de *C. albicans*.

**Israel S, et al.<sup>6</sup> (Filipinas, 2017) Etnobotánicas de Filipinas muestran actividad antifúngica contra Candida albicans, el agente causante de la candidiasis.** El **objetivo** del estudio fue, evaluar el efecto antifúngico del extracto de *Bidens pilosa* frente a *Candida albicans*.

Para el estudio se elaboró un extracto etanólico de las hojas de *Bidens pilosa* en concentraciones de 1250, 750 y 250 ug/ml, los cuales fueron expuestos sobre cepas de *Candida albicans* previamente activadas y sembradas en un medio de cultivo. El efecto antifúngico se evaluó con la medida de los halos de inhibición de microorganismos en milímetros. Los **resultados** indicaron que, para la concentración de 250 ug/ml obtuvo un halo de 6.1 mm, para 750 ug/ml fue 7.5 y para la concentración de 1250 ug/ml fue 8 mm. En **conclusión**, el extracto etanólico de las hojas de *Bidens pilosa* presentó efectos antifúngicos contra *Candida albicans*.

**Da Silva J, et al.<sup>7</sup> (Brasil, 2014) Cribado in vitro de la actividad antibacteriana de *Bidens pilosa* Linné y *Annona crassiflora* Mart. contra el *Staphylococcus aureus* resistente a la oxacilina (ORSA) del ambiente aéreo en la clínica dental.** Realizaron un **estudio** donde se obtuvieron nueve extractos de *B. pilosa* (raíz, tallo, flor y hojas) y *Annona crassiflora* (fruto de corteza, tallo, hojas, semilla y pulpa) con etanol: agua (7: 3, v/v), se evaluó la actividad antibacteriana *in vitro* mediante los métodos de difusión en agar y microdilución de caldo contra 60 cepas de *S. aureus* resistentes a Oxacilina (ORSA) y contra *S. aureus* ATCC6538. Los extractos de *B. pilosa* y *A. crassiflora* inhibieron el crecimiento de los aislamientos ORSA en ambos métodos. Las hojas de *B. pilosa* presentaron una media de diámetros de la zona de



inhibición significativamente superiores a la clorhexidina 0,12% frente a ORSA, y los extractos fueron más activos contra *S. aureus* ATCC ( $p < 0,05$ ). Así, los extractos de las hojas de *B. pilosa* revelaron una buena actividad anti-ORSA y no mostraron toxicidad

**Maobe M, et al.<sup>8</sup> (África, 2013) Actividad antifúngica de ocho hierbas medicinales seleccionadas utilizadas para el tratamiento de la diabetes, la malaria y la neumonía en la región de Kisii, suroeste de Kenia.** El **objetivo** del estudio fue evaluar el efecto antifúngico de los extractos de *Bidens pilosa* sobre *Candida albicans*. Para el **estudio** se elaboraron diversos extractos como etanólicos, hexano, diclorometano y acetato de etilo, los cuales fueron expuestos sobre cepas de *Candida albicans* previamente activadas y sembradas en un medio de cultivo. El efecto antifúngico se midió a través de la medida de los halos de inhibición bacteriana. Los **resultados** indicaron que, para el extracto de hexano obtuvo un halo de 12 mm, el extracto de diclorometano fue 12, para el extracto de acetato de etilo fue 18 mm y para el extracto de etanol fue 12 mm. En **conclusión**, los extractos de *Bidens pilosa* presentaron efectos antifúngicos contra *Candida albicans*.

**Nakama S, et al.<sup>9</sup> (Japón, 2012) Eficacia del extracto de *Bidens pilosa* contra la infección por el virus del herpes simple in vitro e in vivo.** Evaluó la actividad anti virus herpes simple (VHS) de *Bidens pilosa* (*B. pilosa*), una maleza tropical, en células de cultivo de tejidos y

un modelo de ratón. El extracto de *B. pilosa* mostró una potente actividad viricida. Inhibió la formación de placa y suprimió el rendimiento del virus en células Vero y RAW 264.7 infectadas con VHS-1 y VHS-2. Tanto la unión del virus a las células huésped como la penetración del virus en las células también fueron bloqueadas por *B. pilosa*. Además, *B. pilosa* fue eficaz contra cepas de VHS-1 deficientes en timidina quinasa y resistentes a fosfonoacetato. El tratamiento con *B. pilosa* aumentó la tasa de supervivencia de los ratones infectados con VHS y limitó el desarrollo de lesiones cutáneas. Los **resultados** indican que *B. pilosa* tiene actividad anti-VHS y, por lo tanto, es una planta médica potencialmente útil para el tratamiento de la infección por HSV.

## **Nacionales**

**Carrión G, et al. <sup>10</sup> (Lima, 2015) Efecto inhibitor del extracto etanólico de *Bidens pilosa* (AMOR SECO) en comparación al colgate plax® y gluconato de clorhexidina al 0,12% sobre la cepa de *Streptococcus mutans*. Estudio in vitro. lima 2015.** El **objetivo** del estudio fue evaluar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Bidens pilosa* frente a cepas de *Streptococcus mutans*. La **población** estuvo conformada por cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 y la **muestra** fue de 40 placas Petri, dichas cepas se reactivaron y sembraron en el medio de cultivo Agar Sangre y se vertieron aproximadamente 100 ul del extracto etanólico de *Bidens pilosa* en las

proporciones mínimas de 0,8/10, 1/10 y puro, como grupo control se utilizó Gluconato de clorhexidina al 0, 12%, agua destilada y el enjuagatorio Colgate Plax®. Los **resultados** indicaron que, las proporciones mínimas 0,8/10 y 1/10 de extracto etanólico de *Bidens pilosa* no presentaron halos en ningún tiempo, sin embargo, el extracto etanólico puro presentó un halo de inhibición promedio de 11,98 mm a las 24 horas y 11, 80 mm a las 48 horas, Gluconato de clorhexidina al 0,12 %, y un efecto inhibidor menor que el enjuague bucal Colgate Plax®. En **conclusión**, el extracto puro de *Bidens pilosa* presentó efecto antibacteriano frente a cepas de *S. mutans*.

**Gonzales M, et al. <sup>11</sup> (Ayacucho, 2015) Capacidad antifúngica del extracto de hojas de *Bidens pilosa* L. "sillkau" frente a *Candida albicans* Ayacucho-2012.** El **objetivo** del estudio fue, evaluar el efecto antifúngico de las hojas de *Bidens pilosa* sobre *Candida albicans*. Para el estudio se elaboraron extractos, acuosos, etanólicos y metanólicos en concentraciones de 2 mg/ml, 4 mg/ml y 6 mg/ml, los cuales fueron expuestos sobre cepas de *Candida albicans* previamente activadas y sembradas en un medio de cultivo. El efecto antifúngico se midió a través de los halos de inhibición en milímetros. Los **resultados** indicaron que, el extracto acuoso presentó un mayor halo de inhibición en la concentración de 6 mg/ml con una media de 15.3 mm, para el extracto etanólico fue 15.2 mm y para el extracto metanólico fue 14.2 mm. En **conclusión**, los extractos acuosos, etanólico y metanólico en

concentración 6 mg/ml presentaron mayor efecto antifúngico frente a *Candida albicans*.

**Galindo I, et al. <sup>12</sup> (Ayacucho, 2013) Actividad antifúngica del extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos de *Bidens pilosa* L. "sillkau" frente a una cepa de *Candida albicans* ATCC 10231 Ayacucho 2013.** El **objetivo** del estudio fue, evaluar el efecto antifúngico de *Bidens pilosa* frente a *Candida albicans*. Para el **estudio** se elaboró un extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos de *Bidens pilosa* en concentraciones del 0,5%; 1,0%; 3,0%; 5,0% y 10,0%, estos extractos fueron agregados sobre las cepas de *Candida albicans* ATCC 10231 activados y sembrados en un medio de cultivo. El efecto antifúngico se midió a través de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y la Concentración Mínima Fungicida por el método de dilución en caldo. Los **resultados** indicaron mm, al 1% fue 10.67 mm, al 3% fue 13.33 mm, al 5% fue 18 mm y 10% fue 21,33 mm. En conclusión, el extracto de las hojas y tallos de *Bidens pilosa* presentaron actividad antifúngica.

## 2.2. Bases teóricas

### *Bidens Pilosa*

#### Descripción botánica

Flor: La disposición de sus flores en divisiones discoideos, dorados, con las lígulas rectas, tetragonas, lampiñas o con las pestañitas del borde

dirigidas hacia arriba. <sup>13</sup>

La hoja: Presenta un mesófilo diverso anómalo, constituida en una corteza, formada con una sola capa de células. Con presencia de tricomas pluricelulares, continuo de dos parénquimas, un parénquima palisádico de una sola capa de celular y un parénquima lacunoso debajo del cual se halla una epidermis inferior.

Presenta un reborde central vital en forma de epidermis superior, continua de un parénquima, el cual está constituido por células colenquimatosas que se disponen de una forma habitual, en su interior se representa un canal excretor. <sup>14</sup>

Tallo. Está conformado por una cutícula con presencia de tricomas pluricelulares, bajo esta cutícula se encuentra la colénquima, continuo del parénquima cortical, en los cuales se forma un canal excretor, es seguido por la endodermis que presenta estrías de Caspary. <sup>14</sup>

Así mismo se puede encontrar un conjunto de células formada por fibras de floema, así mismo el xilema se encuentra rodeado por los radios medulares, al igual en el tallo se observa un protoxilema del cual se instaure el parénquima medular. <sup>15</sup>

Raíz: Se encontró una superficie con presencia de más de un manto celular y así mismo está conformado por un parénquima cortical que está formado por células de forma cuadrangular, con presencia de espacios entre las células con forma de losange. Presenta una endodermis con presencia de estrías de Caspary, en el cual se encuentra el xilema preparado en canales medulares, entre ellos hay presencia de traquídeos

irregulares dispuestos.<sup>2,3</sup>

#### Distribución geográfica

Se despliega en territorios con climas templados y calurosos, crece a orillas de ríos, costado de caminos, cerros calizos y es ocupante frecuente de campos de agricultura, rastrojos y removidos, crece a una altitud de 2450 a 2750 m.s.n.m.<sup>16</sup>

*Bidens pilosa* L. Oriunda de América del Sur, común de todos los países de zonas tropicales y subtropicales, también en algunos territorios de Europa.<sup>17</sup>

#### Composición química

La composición fitoquímica de la planta entera se han identificado “aminas, esteroides y esferoides, terpenos, flavonoides (0,60- 2,31%), glicósidos aurona y chalconas, cuyas geninas más comunes son okanina, lanceolina y buteína, entre las que se encuentran okanina 4'- O-[p-D-glucopiranosil-(1-6)-3-D glucopiranosido]; p-D- glucopiranosiloxi-3-hidroxi-6(E)-tetradecen-8,10,12-triina; (Z)-7-0-p- Dglucopiranosil-6,7,3',4'-tetrahidroxiaurona; (Z)-6-0-(6-p-cumaroil-p-D glucopiranosil)-6,7,3',4'-tetrahidroxiaurona;(Z)-60-(6<)-acetil-p-Dglucopiranosil,7,3\ 4'- tetrahidro xiaurona”.<sup>18</sup>

Otros metabolitos hallados son saponinas, mucílagos, alcaloides, azúcares (1,76 - 3,94% de azúcar reducida), carotenos, taninos y fenoles. Los polisacáridos se encuentran entre un 3,02 - 5,12%, los más comunes son: D-galacturónico, Larabinosa; D-galactosa, D-glucosa, L- ramnosa

y D-xilosa.<sup>13</sup>

Asimismo se han descubierto combinados poliacetilénicos benzoides (fenil heptatrina [12,0 - 32,3%] y  $\alpha$ -tertienil), carbonato de sodio, potasio, calcio, cloruro de potasio, fitoesteroles ( $\beta$ -sitosterol, estigmasterol) fitosterina B, proteínas (albúmina), un éster con un peso molecular de 74,6; un alcohol alifático (hentrianocontanol) y un aceite esencial. Además, se encuentran el ácido nicotínico, ácido tánico, ácido p-cumárico, ácido salícico, ácido linólico, ácido  $\alpha$ -linolénico e hidrocarburos (C22-C33).<sup>19</sup>

#### Propiedades y usos medicinales

Es un recurso vegetal con efecto terapéuticos (sialagoga, emenagoga) el cual se utilizan todas las partes de la planta para aliviar diversos problemas de salud.<sup>20</sup> El uso de las hojas en infusión y decocto, son útiles de forma directa mediante la masticación para calmar la amigdalitis catarral, tratamiento de úlceras orales, enfermedades sistémicas tanto renales y lesiones de tractodigestivo, afecciones abdominales y cólicos (enemas) se utilizan en cataplasma sobre heridas y tumores, así como para dolencias reumáticas. Las flores, hojas y raíces son utilizadas para calmar dolores dentales. Así mismo las flores tienen propiedades antidiarreico. La raíz se utiliza para tratar el dolor de oído. Las semillas tostadas para incisiones externas, el zumo de la planta entera se utiliza como antídoto en casos de envenenamiento de diversos orígenes.<sup>21</sup>

Asimismo, se recomienda el uso de *B. pilosa* para el tratamiento de malaria, problemas hepáticos, diabetes, gonorrea, gases estomacales, disentería, erisipela, problemas renales, hepatitis, ictericia, hemorroides, reumatismo articular, alergia, anemia y erupciones cutáneas; para combatir el asma, inflamaciones y problemas de la piel, como dermatosis y alergias.<sup>5</sup>

Metabolitos secundarios.

Las plantas curativas normalmente poseen una mixtura de diferentes compuestos químicos que consiguen intervenir individual y coordinadamente en bien la salud. Un solo ejemplar puede contener, sustratos tánicos con acción de antibióticos naturales.<sup>22</sup> Presenta enorme cantidad de metabolitos secundarios los cuales han reportado actividad antifúngica. Muestras muy notables contienen: “Fenoles y glicósidos fenólicos, lactonas insaturadas, compuestos de azufre, saponinas glicósidoscía no genéticos, glucosinolatos, resorcinoles 5-alquilatos y dienos”.<sup>23</sup>

*Candida albicans*

Descripción

Existen más de 100 generos de *Candida* muy contagiosa para la humanidad. En su mayoría son huesped en la boca, tracto gastrointestinal, aparato genitourinario y/o en la piel, esperando el instante oportuno para que desarrolle su población y entonces producir



enfermedad. Es decir, son patógenos oportunistas que se muestran evidentes cuando el equilibrio se fragmenta o altera por algún factor.<sup>24</sup>

*Candida albicans*, a veces se comporta como un saprofito y su aislamiento no implica por sí solo la presencia de infección no sobrevive durante mucho tiempo en superficies secas pero su supervivencia es mayor cuando hay humedad y se ha aislado de los cepillos dentales, cremas de manos, cosméticos y ropa.<sup>25</sup>

*C. albicans* se aísla con frecuencia en casos de infecciones superficiales e invasivas y se sabe que causa candidiasis, una micosis oportunista que puede ser endógena o exógena. Sus lesiones pueden ocurrir de forma superficial o profunda, en condiciones leves, agudas o crónicas. Esta enfermedad puede ocurrir en la boca, garganta, lengua, piel, genitales, dedos, uñas u órganos internos, y puede considerarse una enfermedad de transmisión sexual.<sup>5</sup>

### Morfología

Las “especies del género *Candida* se desarrollan como células levaduriformes ovaladas (3 a 5 um) que forman yemas o blastoconidias; generan asimismo pseudohifas e hifas verdaderas”. De otro lado, *Candida albicans* forma conductos germinales amidoconidias terminales de pared gruesa.<sup>26</sup>

En condiciones *in vitro*, todas las variedades de este género dan lugar a colonias lisas en forma de cúpula de tono blanco a crema. *Candida albicans* suele sufrir evoluciones fenotípicas, por lo que una cepa de

*Candida* se transmuta de modo reversible en alguna de las variadas morfologías diferentes que alcanzan desde la típica colonia lisa blanca desarrollada primordialmente por células levaduriformes de gemación a colonias muy peludas o "vellosas" compuestas fundamentalmente por pseudohifas o hifas.<sup>27</sup>

### Patología y Patogenia

Los estudios acerca de la especie del género *Candida* ha determinado que estos hongos patógenos oportunista y responsables de infecciones micóticas. Desde 1980 hasta la actualidad, se han presentado un crecimiento muy notable en la frecuencia de infección, este problema de salud se ha incrementado a un ritmo inquebrantable en nosocomios de diferentes dimensiones y en todos los sectores etareos.<sup>26</sup>

La manifestación de *Candida albicans* en cualquier segmento del cuerpo humano no expresa enfermedad, ésta sólo se sitúa apoyada sobre una serie de factores que reducen la firmeza orgánica proporcionando la infección, tal es el caso en ancianos y recién nacidos siendo los más vulnerables a adquirir una candidiasis por cambios metabólicos como hipovitaminosis, síndrome de mala absorción y otros trastornos del aparato digestivo; en procesos infecciosos crónicas depauperantes; diabetes mellitus, estados de caquexias, acidosis, leucemia y tratamientos radioterapéuticos, uremia, etc., como también a consecuencia del uso prolongado de antibióticos que alteran la flora microbiana. Del mismo modo influye “la medicación corticosteroide y

citoestática, que actúa de forma represiva sobre los leucocitos. Existen también factores biológicos de importancia, como el embarazo, climaterio, etc., y cambios locales de la cavidad oral, tales como sepsis bucal, prótesis, alteraciones genéticas”, etc. <sup>27</sup>

Las infecciones causadas por *Candida albicans* suelen ubicarse en la mucosa oral (muguet), vaginales, esofágicas, etc. “Además puede causar micosis profunda como meningitis, bronconeumonía, fungemia o candidemia”. <sup>28</sup>

La candidiasis superficial (cutánea o mucosa), es una enfermedad dérmica que se presenta como consecuencia del aumento de la colonización de *Candida* y del deterioro del tejido de la piel o mucosa, permitiendo la colonización local por levadura y pseudohifas. El tratamiento del tratamiento antibiótico por vía oral, genera como consecuencias el incrementó en la colonización de *Candida* a nivel intestinal generando permeabilidad en la mucosa penetrando intestino hasta llegar a la circulación sanguínea. <sup>29</sup>

### Epidemiología

La *Candida* pertenece al género de hongos que colonizan en seres humano y otros animales de sangre caliente y ambientes contaminados.

La *Candida* que presenta la capacidad de adherir en diferentes partes del aparato digestivo desde la cavidad bucal hasta el recto. La vagina en las mujeres es el ambiente más propicio para el desarrollo de este hongo así

mismo en la uretra en los hombres. La piel y bajo las uñas del pie y las manos son también partes vulnerables. La *Candida* es hongo considerado como el primordial agente etiológico de dolencia en el ser humano, y se ha detectado su presencia en el aire, el agua y la tierra.<sup>25</sup> Se estima que “entre un 25% y un 50% de los individuos sanos porta microorganismos de *Candida* en la microflora normal de la cavidad bucal”; *Candida albicans* representaría entre el 70% y 80% de las cepas. Las tasas de portadores orales son elocuentemente mayores en la población pediátrica, los sujetos infectados con VIH, las personas con prótesis dental, diabéticos, individuos sometidos a quimioterapia antineoplásica o antibioterapia y los niños.<sup>26</sup>

#### Cepa y tipo de cultivo

La cepa de referencia de *Candida albicans* ATCC 10231 recomendada como control para los trabajos de investigación, utilizado para contrastar ensayos. En diferentes estudios proceden a realizar los cultivos de *Candida* en medios como agar Sabouraud y en agar de peptona dextrosa.<sup>26</sup>

#### Nistatina para grupo control

Es un antibiótico antimicótico producido por *Streptomyces noursei*, “no es activo frente a células bacterianas y de mamíferos porque no contiene esteróles en su membrana celular”. posee una acción fungistática o

fungicida frente a diversas cepas de levaduras y hongos. *In vitro*, las concentraciones en promedio de 3ug/ml, inhiben el crecimiento de *Candida albicans*.<sup>30</sup>

Dicho antibiótico antimicótico no se absorbe en el tubo digestivo y se utiliza sobre todo en forma específica para tratar la candidiasis oral o vulvovaginitis. Su toxicidad impide el uso parenteral.<sup>31</sup>

Es activa contra la mayoría de las especies de *Candida* y puede utilizarse para el tratamiento de muguet oral y la candidiasis vaginal.<sup>32</sup>

#### Mecanismo de acción

La nistatina medicamento antifúngico poliénico, en su mecanismo de acción ante la bacteria es unirse de modo irreparable a los esteróles de la membrana en las especies susceptibles de *Candida*. “Las moléculas de polienos muestran mayor afinidad por los esteróles fúngicos, incluyendo el ergosterol, que por los esteróles humanos, lo que permite una toxicidad selectiva relativa”. Al unirse aumenta la permeabilidad de la membrana y viabiliza la excreción de compuestos intracelulares esenciales,<sup>33</sup> de este modo al perder sustrato fundamental para su metabolismo y funciones celulares, como potasio, aminoácidos y purinas y, como consecuencia, la muerte celular. “En bajas concentraciones la nistatina es fungistática, mientras que en concentraciones más elevadas tiene actividad fungicida”.<sup>34</sup>

### III. Hipótesis

#### Hipótesis de Investigación

**H<sub>i</sub>:** Quería demostrar que a menor concentración del extracto hidroetanólico de *Bidens pilosa L.* (cadillo) mayor efecto antifúngico sobre cepas de *Candida albicans* ATCC 10231.

#### Hipótesis Estadística

**H<sub>0</sub>:** Quería demostrar que a menor concentración del extracto hidroetanólico de *Bidens pilosa L.* (cadillo) no existe mayor efecto antifúngico sobre cepas de *Candida albicans* ATCC 10231.

**H<sub>1</sub>:** Quería demostrar que a menor concentración del extracto hidroetanólico de *Bidens pilosa L.* (cadillo) si existe mayor efecto antifúngico sobre cepas de *Candida albicans* ATCC 10231.

## **IV. Metodología**

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

Tipo:

Cuantitativo; porque usó magnitudes numéricas.<sup>35</sup>

Nivel:

Explicativo; porque se orienta a establecer las causas que originan un fenómeno determinado. Se trata de un tipo de investigación cuantitativa que descubre el por qué y el para qué de un fenómeno.<sup>35</sup>

Diseño:

Experimental; Porque buscó medir el efecto de la variable independiente sobre la variable dependiente.<sup>35</sup> Este estudio midió el efecto antifúngico del extracto hidroetanólico de las hojas y flores de *Bidens pilosa* sobre cepas de *Candida albicans*.

Prospectivo; Porque se registró la información según ocurrieron los fenómenos.<sup>35</sup> Este estudio registró la información obtenida en una ficha de recolección de datos.

Longitudinal; Porque el interés del investigador fue analizar los cambios a través del tiempo, en determinadas variables.<sup>35</sup>

Analítico; porque el estudio se centró en una relación causa-efecto.<sup>35</sup>

### **4.2. Población y muestra**

La población estuvo conformada por cepas de *Candida albicans* ATCC 10231 en la provincia de Trujillo, 2019.

**Criterios de selección Criterios de inclusión**

- Cepas puras de *Candida albicans* ATCC 10231

**Criterios de exclusión**

- Placa Petri contaminada

Para determinar el tamaño de la muestra se hizo uso

$$n = \frac{(Z_{\alpha/2} + Z_{\beta})^2 2 S^2}{(\bar{X}_1 - \bar{X}_2)^2}$$

Donde

$$Z_{\alpha/2} = 1.96 \text{ para un } \alpha = 0,05$$

$$Z_{\beta} = 0.84 \text{ para un } \beta = 0.20$$

S= 0.8  $(\bar{X}_1 - \bar{X}_2)$  valor asumido por no estar indicados los parámetros a investigar  $(\bar{X}_1, 5)$

Reemplazando

$$n = \frac{(1.96 + 0.84)^2 2 \times 0.8^2 (\bar{X}_1 - \bar{X}_2)^2}{(\bar{X}_1 - \bar{X}_2)^2} = 2.8^2 \times 2 \times 0.8^2 = 10$$

Luego la muestra estuvo conformada por 10 repeticiones para cada grupo



### 4.3. Definición y operacionalización de variables

Variable	Definición conceptual	Indicador	Valores finales	Tipo de variable	Escala de medición
Extracto hidroetanólico de hojaya flor de <i>Bidens pilosa</i> L. ( <i>cadillo</i> )	Es un concentrado obtenido de <i>Bidens pilosa</i> ( <i>cadillo</i> ) con ayuda del alcohol y del agua destilada, consiguiendo así la sustancia activa del vegetal. <sup>11</sup>	Concentración del extracto hidroetanólico de <i>Bidens pilosa</i>	50% 75%	Cuantitativa	Ordinal
Efecto antifúngico sobre <i>Candida albicans</i> ATCC 10231	<i>Candida albicans</i> es una levadura causante de la candidiasis en personas. <sup>24</sup>	Halos de inhibición	Mm	Cuantitativa	De razón

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

##### **Técnicas**

Técnica: Observación microbiológica.

##### **Instrumentos**

El instrumento de medición utilizado en este estudio fue una ficha de recolección de datos elaborado por el investigador para colocar los halos de inhibición según grupo de estudio. (Anexo 1)

##### **Protocolos de experimentación**

##### **Obtención y procesamiento del extracto hidroetanólico de hoja y flor**

##### ***Bidens pilosa* (cadillo)**

##### **Recolección e identificación taxonómica de la muestra**

Se recolectaron 5 Kg de hoja y flor de cadillo (*Bidens pilosa*) del biohuerto de la universidad nacional de Trujillo. La recolección de la especie se realizó por el método convencional o clásico de herborización y teniendo en cuenta que sea una planta orgánica. Un ejemplar completo de la especie fue llevado al *Herbarium Trujillense* para su identificación taxonómica. (Anexo 2)

##### **Selección de la muestra**

La hoja y flor de cadillo (*Bidens pilosa*) fueron recolectados y luego transportados al laboratorio de Farmacognosia de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de Trujillo, en donde se seleccionaron aquellas hojas y flores que estaban en buen estado y se

eliminaron las sustancias extrañas que estaban presentes en la muestra.

### **Obtención del extracto hidroetanólico de la hoja y flor de *Bidens pilosa* por maceración**

El extracto se obtuvo por el proceso de maceración; para el cual se emplearon 1kg de hoja y flor (*Bidens pilosa*) por separado, estos se limpiaron, cortaron manualmente, y desinfectaron con hipoclorito de sodio al 4% en pequeñas gotas, luego fueron molidas y maceradas en una solución a una concentración de 20% peso / volumen de alcohol etílico 70%, 500 ml de agua destilada, durante 7 días, luego de ello se pasaron a colocar en frascos color ámbar con temblores diarios.

### **Desinfección del extracto hidroalcohólico de hoja y flor de *Bidens pilosa*.**

Después de la maceración, recibieron filtración a través de "nylon" y nuevamente a través de un filtro de papel. Posteriormente, los extractos obtenidos se sometieron a evaporación y concentración bajo presión negativa de 500 mmHg y 60 ° C, y a continuación, se distribuyeron en botellas de 5 ml color ámbar, se congelaron y se liofilizaron, por lo que se obtuvo extractos hidroalcohólicos de *Bidens pilosa*.

### **Establecimiento de la densidad del extracto hidroalcohólico de *Bidens pilosa*.**

Posteriormente, los extractos obtenidos se sometieron a evaporación y

concentración bajo presión negativa de 500 mmHg y 60 °C y a continuación, se distribuyó en botellas de 5 ml color ámbar, se congelaron y se liofilizaron, por lo que se obtuvo extractos hidroalcohólicos de *Bidens pilosa*

#### **Conservación de la muestra.**

Para la conservación de la muestra se almacenó en un frasco ámbar cerrado herméticamente y refrigerado a una temperatura 4°C.

#### **Dilución de la muestra en las distintas concentraciones.**

Para la dilución de las muestras del extracto hidroalcohólico del *Bidens pilosa* (cadillo) en las concentraciones de hoja 50 %, 75%, flor 50%, 75%, se usó el agua destilada estéril.

#### **Evaluación del efecto antifúngico, in vitro, del extracto hidroetanólico de *Bidens pilosa* sobre *Candida albicans* ATCC 10231.**

##### **Reactivación de la cepa de *Candida albicans* ATCC 10231.**

Para este estudio se utilizó cultivo liofilizado de la cepa de *Candida albicans* ATCC 10231.

La reactivación se realizó sembrando el cultivo liofilizado en tubo con 5 mL de Caldo Brain Heart Infusion (BHI) o Infusión Cerebro Corazón, luego se incubó a 37°C por 24 – 48 horas.

Para evaluar pureza se sembró por estría en Agar Sabouraud e incubó en

37°C por 24 – 48 horas. Posteriormente se eligió una colonia compatible con *Candida albicans* para realizar coloración Gram.

La cepa se mantuvo en caldo BHI y en Agar Sabouraud, hasta su posterior utilización.

### **Preparación de las concentraciones del extracto hidroetanólico de *Bidens pilosa*.**

A partir del extracto hidroetanólico obtenido se procedió a preparar la concentración de 50,75 %. Luego, se preparó las concentraciones a emplear en la investigación que fue de 50,75%

### **Evaluación de la susceptibilidad antifúngica mediante el método de Kirby Bauer.**

La evaluación del efecto antifúngico del extracto hidroetanólico *Bidens pilosa* sobre el crecimiento de *Candida albicans* ATCC 10231, se realizó mediante el método Kirby Bauer, de difusión en agar. Para lo cual se procedió de la siguiente manera:

### **Estandarización del inóculo de *Candida albicans* ATCC 10231.**

Las cepas de *Candida albicans* ATCC 10231 mantenidos en Caldo BHI se sembraron en Agar Sabouraud, durante 24 horas, con el fin de obtener colonias jóvenes.

Luego, de 24 horas cada colonia de *Candida albicans* ATCC 10231, se colocó en caldo BHI y se hicieron suspensiones con una turbidez semejante al tubo número 0.5 del Nefelómetro de Mac Farland (1.5x 10<sup>8</sup> hong./mL) .

Inoculación

Dentro de los 15 minutos siguientes al ajuste de la turbidez del inóculo ( $1.5 \times 10^8$  ufc/ml), se tomó una alícuota de 100  $\mu$ l y se colocó en cada una de las placas con Agar Müeller Hinton más glucosa, con un hisopo estéril sumergido en la suspensión se distribuyó la suspensión fúngica en tres direcciones para asegurar una distribución uniforme del inóculo en la placa. Se dejó secar la placa a temperatura ambiente durante 3 a 5 minutos para que cualquier exceso de humedad superficial sea absorbido.

#### **Preparación de los discos con el extracto hidroetanólico de *Bidens pilosa***

Se prepararon discos de papel filtro whatman número 3 estériles, los cuales fueron embebidos con 30  $\mu$ l de cada una de las concentraciones de 50,75, % del extracto hidroetanólico de *Bidens pilosa*. Luego, con una pinza estéril, los discos fueron colocados sobre las placas de Müeller Hinton inoculadas más glucosa con la cepa de *Candida albicans* ATCC 10231.

#### **Incubación:**

Se incubaron las placas en posición invertida dentro de los 15 minutos posteriores a la aplicación de las sustancias a evaluar, a 37°C durante 24 y 48 horas.

### **Lectura de los resultados**

Después del tiempo de incubación a 48 horas se examinó cada placa y se midieron los diámetros (mm) de los halos de inhibición del crecimiento alrededor de cada disco. Para lo cual se utilizó un Vernier, el cual fue un instrumento calibrado diseñado para medir la unidad de medida de longitud y confiable porque es un instrumento calibrado, certificado con el estándar de calidad ISO 9001, de marca MITUTOYO Numero de Modelo 500-157-30.

Se realizaron 10 repeticiones de cada concentración.

#### **4.5. Plan de análisis**

En la presente investigación, para el procesamiento estadístico de datos se hizo uso del software estadístico SPSS v. 26, y Microsoft Excel.

De la estadística descriptiva se utilizó para presentar medidas de tendencia central como la media, desviación estándar, entre otros, mediante tablas y figuras estadísticas.

De la estadística inferencial, haciendo uso de la prueba de normalidad de Shapiro-wilk, con la cual se determinó la utilización de la prueba no paramétrica Kruskal wallis y prueba post hoc Test de Duncan, y para la comparación de dos grupos la prueba U-Mann de Whitney, con su respectivo nivel de significancia al 0.05, para dar respuestas según cada objetivo.



#### 4.6. Matriz de consistencia

Problema	Objetivos	Hipótesis	VARIABLES	Metodología
¿Cuál es la diferencia al comparar <i>in vitro</i> el efecto antifúngico entre dos concentraciones del extracto hidroetanólico de hoja versus extracto de flor de <i>Bidens Pilosa L</i> (cadillo) sobre cepas de <i>Candida albicans</i> ATCC 10231?	<p><b>Objetivo general</b> Comparar <i>in vitro</i> el efecto antifúngico entre dos concentraciones del extracto hidroetanólico de hoja versus extracto de flor de <i>Bidens pilosa L.</i> (cadillo) sobre <i>Candida albicans</i> ATCC 10231.</p> <p><b>Objetivos específicos</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Evaluar <i>in vitro</i> el efecto antifúngico del extracto hidroetanólico de hoja de <i>Bidens pilosa L.</i> (cadillo) al 50% sobre cepas de <i>Candida albicans</i> ATCC 10231.</li> <li>• Evaluar <i>in vitro</i>, el efecto antifúngico del extracto hidroetanólico de hoja de <i>Bidens pilosa L.</i> (cadillo) al 75% sobre cepas de <i>Candida albicans</i> ATCC 10231.</li> <li>• Evaluar <i>in vitro</i>, el efecto antifúngico del extracto hidroetanólico de flor de <i>Bidens pilosa L.</i> (cadillo) al 50% sobre cepas de <i>Candida albicans</i> ATCC 10231.</li> <li>• Evaluar <i>in vitro</i>, el efecto antifúngico del extracto hidroetanólico de flor de <i>Bidens pilosa L.</i> (cadillo) al 75% sobre cepas de <i>Candida albicans</i> ATCC 10231.</li> </ul>	El extracto hidroetanólico de las hojas de <i>Bidens pilosa L.</i> (cadillo) al 50% presenta mayor efecto antifúngico que las de más concentraciones sobre cepas de <i>Candida albicans</i> ATCC 10231.	Efecto antifúngico	<p><b>Tipo:</b> Cuantitativo</p> <p><b>Nivel:</b> Explicativo</p> <p><b>Diseño:</b> Experimental</p> <p><b>Población</b> Cepa <i>Candida albicans</i> ATCC 10231</p> <p><b>Muestra</b> 10 repeticiones por cada grupo de estudio</p>

#### **4.7. Principios éticos**

Esta investigación se basó en el Código de Ética de la Universidad ULADECH, respetando los principios éticos de beneficencia y no maleficencia, para lo cual el investigador antes y durante la ejecución del estudio contaba con seguro médico; principio de justicia, para lo cual se aseguró un trato equitativo a quienes participaron en los procedimientos a la investigación.; principio de integridad científica, en la cual se asegura que se conocen y se utilizaron los protocolos de seguridad correspondientes en el estudio, asimismo, se declara que no hubo conflicto de intereses en esta investigación; y principio de cuidado del medio ambiente y la biodiversidad, para lo cual se informa que no se registraron daños, riesgos y beneficios potenciales que afectaron a las plantas, medio ambiente o a la biodiversidad.<sup>36</sup>

## V. Resultados

### 5.1. Resultados

**Tabla 1.** Comparación *in vitro* del efecto antifúngico entre las concentraciones del extracto hidroetanólico de hoja versus extracto de flor de *Bidens pilosa* L. (cadillo) sobre *Candida albicans* ATCC 10231

Concentración	N	Media	Desviación típica	Sig. (p)*
Hoja 50%	10	18.78	1.30	
Hoja 75%	10	29.65	0.41	
Flor 50%	10	14.09	0.73	0.000
Flor 75%	10	14.67	1.07	
Control positivo	10	29.91	0.19	

Fuente: Datos obtenidos por el investigador.

\*Prueba de Kruskal Wallis

**Interpretación:** en la tabla se observa que el extracto hidroetanólico de las hojas al 50% obtuvo un halo de inhibición de 18.78 mm, al 75% obtuvo 29.65 mm, mientras que el extracto hidroetanólico de las flores al 50% obtuvo 14.09 mm y al 75% obtuvo 14.67 mm sobre las cepas de *Candida albicans* ATCC 10231.

**Tabla 2.** Comparación del efecto antifúngico entre dos concentraciones del extracto hidroetanólico de hoja versus extracto de flor de *Bidens pilosa* L. (cadillo) sobre *Candida albicans* ATCC 10231.

Concentración	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
Flor 50%	10	14.09		
Flor 75%	10	14.67		
Hoja 50%	10		18.78	
Hoja 75%	10			29.65
Control positivo	10			29.91
Sig.		0.132	1.000	0.495

\* Prueba Post hoc Duncan

**Interpretación:** Mediante el test de Duncan, evidenciamos que, la Flor 50% y Flor 75%, ambas concentraciones presentan similar efecto antifúngico, mientras que Hoja 50%, presenta un efecto antifúngico distinto a las demás concentraciones. Y por último Hoja 75% y control positivo ambas concentraciones presentan similar efecto antifúngico, pero distinto a las demás concentraciones.

**Tabla 3.** Comparación in vitro el efecto antifúngico del extracto hidroetanólico de hoja al 50% y al 75%, sobre *Candida albicans* ATCC 10231.

Concentración	N	Media	Desviación típica	Sig. (p)*
Hoja 50%	10	18.78	1.30	0.001
Hoja 75%	10	29.65	0.41	

Fuente: Datos obtenidos por el investigador.

\*Prueba U-Mann de Whitney

**Interpretación:** Comparando el efecto antifúngico entre dos concentraciones del extracto hidroetanólico de hoja al 50% y al 75%, sobre *Candida albicans* ATCC 10231, haciendo uso de la prueba no paramétrica U de Mann-Whitney, se obtuvo un ( $p = 0.001 < 0.05$ ), de lo cual podemos indicar que si existe una diferencia estadísticamente significativa entre las concentraciones evaluados.

**Tabla 4:** Comparación in vitro el efecto antifúngico del extracto de flor de *Bidens pilosa L.* (cadillo) al 50% y al 75%, sobre *Candida albicans* ATCC

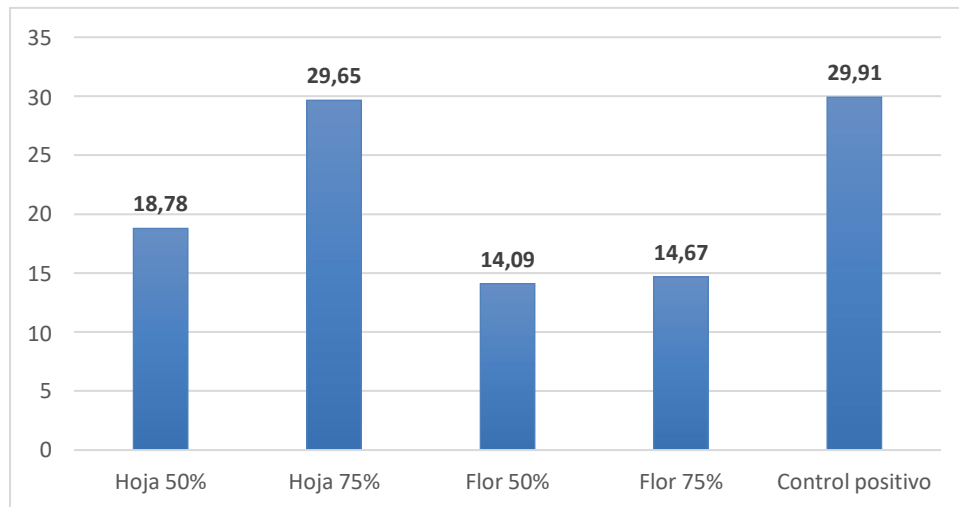
Concentración	N	Media	Desviación típica	Sig. (p)*
Flor 50%	10	14.09	0.73	0.340
Flor 75%	10	14.67	1.07	

Fuente: Datos obtenidos por el investigador.

\*Prueba U-Mann de Whitney

**Interpretación:** Comparando el efecto antifúngico entre extracto de flor de *Bidens pilosa L.* (cadillo) al 50% y al 75%, haciendo uso de la prueba no paramétrica U de Mann-Whitney, se obtuvo un ( $p = 0.340 > 0.05$ ), de lo cual podemos indicar que no existe una diferencia significativa entre las concentraciones evaluados.

**Gráfico 1.** Comparación *in vitro* del efecto antifúngico entre las concentraciones del extracto hidroetanólico de hoja versus extracto de flor de *Bidens pilosa* L. (cadillo) sobre *Candida albicans* ATCC 10231



Fuente: Datos obtenidos por el investigador

**Interpretación:** Aplicado la prueba no paramétrica Kruskal wallis, se obtuvo ( $p = 0.000 < 0.05$ ), de lo cual podemos indicar que si existe una diferencia significativa entre las concentraciones evaluados en la investigación.

## 5.2. Análisis de resultados

La presente investigación, buscó comparar el efecto antifúngico entre dos concentraciones del extracto hidroetanólico de hoja versus flor de *Bidens pilosa* L. (Cadillo) sobre cepas de *Candida albicans*, los resultados indicaron que, el extracto de la hoja al 75% presentó mayor efecto antifúngico, sin embargo, al aplicar la prueba Post hoc Duncan, se demostró que no hubo diferencias significativas con el grupo control positivo, para el cual se utilizó la nistatina, estos resultados se pudieron dar porque, la nistatina se une de manera irreversible a los esteróles de la membrana en las especies susceptibles de *Candida*. Las moléculas de polienos presentan mayor afinidad por los esteróles fúngicos, incluyendo el ergosterol, que por los esteróles humanos, lo que permite una toxicidad selectiva relativa. Al unirse aumenta la permeabilidad de la membrana y posibilita la salida de componentes intracelulares esenciales,<sup>33</sup> le hace perder sustancias vitales para su metabolismo y funciones celulares, como potasio, aminoácidos y purinas y como consecuencia, la muerte celular.<sup>34</sup> Asimismo, el extracto de las hojas de cadillo presenta alcaloides, glucósidos, taninos, cumarinas, flavonoides, mucílagos, fitoesteroles, entre otros compuestos, los cuales le confieren mayores actividades antifúngicas. Estos resultados son similares a los estudios de, Israel S, et al.<sup>6</sup>, Gonzales M.<sup>11</sup>, Maobe M, et al.<sup>8</sup>, y Galindo I.<sup>12</sup>, los cuales demostraron que, los extractos hidroetanólicos, acuosos, etanólico y metanólico de las hojas de *Bidens pilosa* demostraron buenos efectos antifúngicos sobre *Candida albicans*; además, el estudio de



Linhares M, et al.<sup>5</sup> demostró que el aceite de las hojas frescas de *B. pilosa* presentó efecto antifúngico frente a *C. albicans*, este resultado pudo darse debido a que los aceites esenciales de las hojas frescas de *B. pilosa* bien pueden estar asociadas con la cantidad de 1-fenilhepta-1,3,5-triyne, una sustancia de conocida acción antifúngica en la lucha contra *C. albicans*.<sup>5</sup>

Además de estos efectos, esta planta presentó otros efectos medicinales demostrados por los estudios de Carrión G.<sup>10</sup>, Da Silva J, et al.<sup>7</sup>, y Nakama S, et al.<sup>9</sup>, los cuales, demostraron que los extractos de *Bidens pilosa* presentaron actividades antibacterianas y antivirales. Estos resultados se pudieron dar porque *Bidens pilosa* presenta, compuestos flavónicos, taninos y cumarinas que poseen propiedades antifúngicas, antibacterianas, entre otros.<sup>11</sup>

El extracto hidroetanólico de la hoja de *Bidens pilosa* L. al 75% presentó un mayor efecto antifúngico sobre *Candida albicans* que las demás concentraciones de los extractos de hoja y flor de cadillo, seguido del extracto de hoja al 50%, luego los extractos de la flor al 75 y 50%, estos resultados se pudieron dar porque, la eficacia de los extractos de plantas vegetales puede deberse a la presencia de varios metabolitos primarios y secundarios como los taninos, saponinas, lectinas, flavonoides, alcaloides, taninos, polienos, terpenoides, glucósidos y otros componentes que pueden reducir de manera directa e indirecta el riesgo de infecciones como las ocasionadas por *Candida albicans*, asimismo, los flavonoides y taninos ejercen su actividad antimicótica debido a que

se combina con la membrana celular de los microorganismos e inhiben la actividad enzimática desnaturizando las proteínas e inhibiendo su crecimiento.<sup>6</sup>

## **VI. Conclusiones**

1. Al comparar el efecto antifúngico entre dos concentraciones del extracto hidroetanólico de hoja versus flor de *Bidens pilosa L.* (Cadillo) sobre cepas de *Candida albicans*, el extracto de la hoja al 75% presentó mayor efecto antifúngico.
2. El extracto hidroetanólico de la hoja de *Bidens pilosa L.* al 75% presentó efecto antifúngico frente a *Candida albicans*.
3. El extracto hidroetanólico de la hoja de *Bidens pilosa L.* al 50% presentó efecto antifúngico frente a *Candida albicans*.
4. El extracto hidroetanólico de la flor de *Bidens pilosa L.* al 75% presentó efecto antifúngico frente a *Candida albicans*.
5. El extracto hidroetanólico de la flor de *Bidens pilosa L.* al 50% presentó efecto antifúngico frente a *Candida albicans*.

### **Aspectos complementarios**

- Realizar estudios similares con el propósito de seguir estudiando las propiedades medicinales de las plantas oriundas de nuestro país y puedan ser aplicadas a la odontología.
- Realizar estudios experimentales, con otras concentraciones, mayores a las efectuadas, que nos permitan observar la eficacia del extracto hidroetanólico de *Bidens pilosa L.* sobre cepas de *Candida albicans*.
- Impulsar a realizar más estudios con *Bidens pilosa L.*, para conocer de su efecto sobre los microorganismos presentes en boca, ya que, según diversas investigaciones presenta diversas propiedades que pueden ser utilizadas en la odontología.

## Referencias bibliográficas

1. Nobile C, Johnson A. *Candida albicans* Biofilms and Human Disease. *Annu. Rev. Microbiol.* [Online] 2015 [Cited april 20; 2018]; 69 (1):71-92. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26488273>
2. Pappas P, Kauffman C, Andes D, et al. *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America.* *Clin Infect Dis.* [Online] 2016 [Cited april 20; 2018]; 62 (4): 1-50. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4725385/>
3. Lastra H, Ponce H. *Bidens pilosa* Linné. *Rev. Cubana. Plant. Med.* [Internet] 2001 [Citado el 20 de abril 2018]; 6(1): 28-33. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1028-47962001000100007](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962001000100007)
4. Cruz A, Rodríguez N, Rodríguez C. Evaluación in vitro del efecto antibacteriano de los extractos de *Bidens pilosa*, *Lantana camara*, *Schinus molle* y *Silybum marianum*. *Rev. U.D,C.A act. divulg. cient.* [Internet] 2010 [Citado el 20 de abril 2018]; 13(2): 117- 124. Disponible en:[http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0123-42262010000200014&script=sci\\_abstract&tlng=es](http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0123-42262010000200014&script=sci_abstract&tlng=es)
5. Linhares M, Silva R, Oliveira F, Costa L, Conceicao A, Oliveira R. Avaliation anti-*Candida* of essential oils from three medicinal plants species (Astereaceae). *Sou. Afric. J. Bot.* [Online] 2018 [Cited oct. 23; 2020]; 115(1): 132-137. Available in: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S025462991731298>
6. Israel S, Judan K. *Philippine Ethnobotanicals Show Antifungal*

Activity against *Candida albicans*, the Causative Agent of Candidiasis. *Int. Jour. Agric. Technol.* [Online] 2017 [Cited april 20; 2018]; 13(7): 2523-2528. Disponible en: [http://www.aatsea.org/images/conference\\_publications/pdf/v13\\_n7\\_3\\_2017\\_December/33\\_IJAT\\_13\(7.3\)\\_2017\\_Somar-Israel%20Fernando\\_Environment,%20Toxicology%20and%20Agricultural%20Development.pdf](http://www.aatsea.org/images/conference_publications/pdf/v13_n7_3_2017_December/33_IJAT_13(7.3)_2017_Somar-Israel%20Fernando_Environment,%20Toxicology%20and%20Agricultural%20Development.pdf)

7. Da Silva J, Cerdeira C, Chavasco J, et al. In vitro screening antibacterial activity of *Bidens pilosa* Linné and *Annona crassiflora* Mart. against oxacillin resistant *Staphylococcus aureus* (ORSA) from the aerial environment at the dental clinic. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo.* [Online] 2014 [Cited may 25; 2019]; 56(4): 333-340. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4131820/>
8. Maobe M, Gitu L, Gatebe L, Rotich H, Karanja P, Votha D, et al. Antifungal Activity of Eight Selected Medicinal Herbs Used for the Treatment of Diabetes, Malaria and Pneumonia in Kisii Region, Southwest Kenya. *Worl. J. Med. Sc.* [Internet]. 2013 [Cited may 25; 2019]; 8(1): 74-78. Disponible en: [http://idosi.org/wjms/8\(1\)13/12.pdf](http://idosi.org/wjms/8(1)13/12.pdf)
9. Nakama S, Tamaki K, Ishikawa C, Tadano M, Mori N. Efficacy of *Bidens pilosa* Extract against Herpes Simplex Virus Infection In Vitro and In vivo. *Evid. Based. Complement. Alternat. Med.* [Online] 2012 [Cited may 25; 2019]; 20(12):413-453. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/pmid/22474501/>

10. Carrión G. Efecto inhibidor del extracto etanólico de *Bidens pilosa* (AMOR SECO) en comparación al colgate plax® y gluconato de clorhexidina al 0,12% sobre la cepa de *Streptococcus mutans*. Estudio in vitro. lima 2015 [Tesis]. Perú: Universidad Privada Norbert Wiener. Facultad de odontología; 2015. Disponible en: <http://repositorio.uwiener.edu.pe/bitstream/handle/123456789/157/CARRION%20GONZALEZ%20REYES%20GUERALDIN.pdf?sequence=3&isAllowed=y>
11. Gonzales M. Capacidad antifúngica del extracto de hojas de *Bidens pilosa* L. "sillkau" frente a *Candida albicans* Ayacucho-2012 [Tesis]. Perú: Universidad Nacional de San Cristobal de Huamanga. Facultad de Ciencias de la Salud; 2015.
12. Galindo I. Actividad antifúngica del extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos de *Bidens pilosa* L. "sillkau" frente a una cepa de *Candida albicans* ATCC 10231 Ayacucho-2013 [Tesis]. Perú: Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Facultad de Ciencias Biológicas; 2013.
13. Roig J. Diccionario Botánico de nombres vulgares cubanos. La Habana - Cuba: Revolucionaria; [Internet] 1965 [Citado el 25 de mayo 2019]. Disponible en: <https://quod.lib.umich.edu/cgi/t/text/textidx?c=philamer;idno=AJN8354.0001.001>
14. Mvere B. *Bidens pilosa* L. [Interet] 2004 [Cited may 03; 2020]. Available in: <https://uses.plantnet->

[project.org/en/Bidens\\_pilosa \(PROTA\)](http://project.org/en/Bidens_pilosa_(PROTA))

15. Vásquez C. Contribución ao estudo do picao. Arq. Bras. Med. 1986; 60(4): 283-87.
16. Sarg T. Macro and micromorphological study of *Bidens pilosa*. Egypt Pharm Sci. 1998; 34(1): 355-386.
17. Bussmann D. Plantas medicinales de los Andes y la Amazonía. La flora mágica y medicinal del norte del Perú. [Internet]. 2015 [Citado en agosto 2019]. Disponible en: [http://docs.bvsalud.org/biblioref/2018/10/916684/plantas-medicinales-de-los-andes-y-la-amazonia-la-flora-magica-\\_Qa3dgqr.pdf](http://docs.bvsalud.org/biblioref/2018/10/916684/plantas-medicinales-de-los-andes-y-la-amazonia-la-flora-magica-_Qa3dgqr.pdf)
18. Álvarez A, Montero M, Pomar F, Sánchez E. Actividad antiulcerosa de un extracto etanólico de *Bidens pilosa* L. var. *radiata* Schult. Bip. en ratas. Rev. Cubana Plant Med. [revista en internet] 1998 [Citado en agosto 2019]; 3(3): 12-7. Disponible en: [https://imbiomed.com.mx/1/1/articulos.php?method=showDetail&id\\_articulo=48826&id\\_seccion=496&id\\_ejemplar=4944&id\\_revista=77](https://imbiomed.com.mx/1/1/articulos.php?method=showDetail&id_articulo=48826&id_seccion=496&id_ejemplar=4944&id_revista=77)
19. González A. Biological screening of Uruguayan medicinal plants. J. Ethnopharmacol. [Online] 1993 [Cited August 15; 2019]; 39(3): 2017-220. Available in: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/037887419390040C>
20. Biswas R. Ultraviolet mediated cytotoxic activity of Phenyl heptatriene from B.P.J. Nat. Prod. 1979; 42(1): 103-111.
21. Álvarez A, Corrales A, Díaz J, Cabrera M, Fuentes V, García M.



- Fitomed II. La Habana - Cuba: Ciencias Médicas; 1993.
22. Palacios J. Plantas Medicinales Nativas del Perú. Tomo II. Lima - Perú: CONCYTEC; 1997.
  23. Taylor L. En *The Healing Power of Rainforest Herbs: A Guide to Understanding and Using Herbal Medicinals*. Ed: Square One Publishers. España, 2005.
  24. Lock O. *Investigación Fitoquímica: Métodos en el estudio de Productos Naturales*. 2da ed. Ed: PUCP. España; 1994.
  25. Huamaní M, Ruiz J. Determinación de la actividad antifúngica contra *Candida albicans* y *Aspergillus niger* de 10 plantas medicinales de 3 departamentos del Perú [Tesis]. Perú: Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Facultad de odontología; 2005. Disponible en: [http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/cybertesis/1278/Huamani\\_am.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/cybertesis/1278/Huamani_am.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
  26. Ciudad A. Infecciones vaginales por candida: Diagnóstico y tratamiento. *Rev. Per. Ginecol. Obstet.* [Internet] 2007 [Citad el 02 de set 2019]; 53 (1): 159-166. Disponible en: [http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/ginecologia/vol53\\_n3/pdf/a04v53n3.pdf](http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/ginecologia/vol53_n3/pdf/a04v53n3.pdf)
  27. Berkhout R. *Candida albicans*. *Revista Iberoam Micol.* 2002:25-26.
  28. Murray P, Rosenthal K, Pfaller M. *Microbiología Médica*. 6ta ed. Barcelona - España: Elsevier; 2009.
  29. Sandner O, Mata M. *Candida albicans* como saprófito de la mucosa lingual. *Rev. Dermatol. Venez.* [Internet] 1974 [Citado el 8 noviembre

2019]; 13(1). Disponible en:

<http://revista.svderma.org/index.php/ojs/article/view/1073>

30. De La Rosa M, Prieto J, Navarro J. Microbiología en la Ciencia de la Salud. 2da. ed. Madrid - España: Elsevier; 2003.
31. Brooks G, Butel J, Morse S. Microbiología Médica de Jawetz, Melnick y Adelbertg. 17ava ed. México: El Manual Moderno; 2002.
32. Herndon D. Tratamiento Integral de Quemaduras. 3era ed. Barcelona - España: Elsevier; 2009.
33. Forbes B, Sahn D, Weissfeld A. Diagnostico Microbiológico. 11<sup>ava</sup> ed. Buenos Aires - Argentina: Médica Panamericana; 2004.
34. Rémington, G. Farmacia. Tomo I y II. 20ava ed. Buenos Aires - Argentina: Médica Panamericana; 2003.
35. Hernández R, Fernández C, Baptista P. Metodología de la investigación. 6<sup>a</sup> ed. México: Interamericana; 2014.
36. Universidad Católica los Ángeles de Chimbote. Código de Ética para la Investigación. Perú. [Internet] 2016 [Citado el 24 de abril del 2020]. Disponible en:  
<https://www.uladech.edu.pe/images/stories/universidad/documentos/2016/codigo-de-etica-para-la-investigacion-v001.pdf>

## Anexos

### Anexo 1: Ficha de recolección de datos

Diámetro halos de Inhibición (mm)					
Repetición	Hoja		Flor		Control positivo
	50%	75%	50%	75%	
	118.6	30.2	14.6	13.3	29.7
	220.6	30.2	14.6	14.0	29.8
	316.3	30.0	14.6	13.3	29.6
	417.3	29.5	12.6	16.3	30.0
	518.0	29.4	13.6	14.6	30.2
	619.6	29.4	13.3	15.3	29.9
	719.7	29.4	14.7	16.3	29.8
	818.9	29.8	14.5	14.2	30.1
	918.8	29.7	13.8	14.5	30.0
	1020.0	28.9	14.6	14.9	30.0
<b>Promedio</b>	<b>18.7</b>	<b>29.7</b>	<b>14.1</b>	<b>14.7</b>	<b>29.9</b>

## Anexo 2

Prueba de normalidad, Comparar *in vitro* el efecto antifúngico entre dos concentraciones del extracto hidroetanólico de hoja versus extracto de flor de *Bidens pilosa* L. (cadillo) sobre *Candida albicans* ATCC 10231

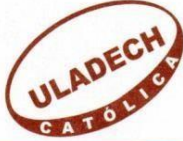
Repeticiones	Tratamientos - Halos de inhibición (mm)				
	Hoja 50%	Hoja 75%	Flor 50%	Flor 75%	Control positivo
1	18.6	30.2	14.6	13.3	29.7
2	20.6	30.2	14.6	14	29.8
3	16.3	30	14.6	13.3	29.6
4	17.3	29.5	12.6	16.3	30
5	18	29.4	13.6	14.6	30.2
6	19.6	29.4	13.3	15.3	29.9
7	19.7	29.4	14.7	16.3	29.8
8	18.9	29.8	14.5	14.2	30.1
9	18.8	29.7	13.8	14.5	30
10	20	28.9	14.6	14.9	30
Promedio	18.78	29.65	14.09	14.67	29.91
p (sig.)	0.851	0.510	0.014	0.411	0.883
Prueba Shapiro-Wilk	Normalidad	Normalidad	No Normalidad	Normalidad	Normalidad

**Interpretación:** Al tener menos de 30 datos por cada grupo, es recomendable usar la prueba de normalidad del Shapiro- Wilk, para evaluar la distribución normal de los datos, de donde observamos la existencia de un grupo con distribución no normal, es decir con una significancia menor a 0.05 ( $p < 0.05$ ).

Con lo cual podemos concluir, en general los datos no presentan una distribución normal.

## Anexo 3

### Constancia de permiso para ejecución del estudio



UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES  
CHIMBOTE  
FILIAL TRUJILLO  
CARRERA PROFESIONAL DE ODONTOLOGÍA

Trujillo, 19 de febrero del 2019

SR. DENNIS ROMARIO GALLARDO PAREDES  
JEFE DEL ÁREA DE LABORATORIOS DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO

Presente

De mi especial consideración:

Es grato dirigirme a usted para saludarlo muy cordialmente en mi condición de Coordinador de carrera de la Escuela Profesional de Odontología de la Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote Filial Trujillo. Siendo el motivo de la presente manifestarle que, en el marco del cumplimiento curricular de la carrera profesional de odontología, en el curso de Tesis II, nuestro alumno, TORO HUATANGARE, Anibal; debe llevar a cabo el desarrollo de su proyecto de tesis titulado "COMPARACIÓN in vitro DEL EFECTO ANTIFÚNGICO ENTRE DOS CONCENTRACIONES DEL EXTRACTO HIDROETANOLICO DE HOJA VERSUS EXTRACTO DE FLOR DE *Bidens pilosa* (cadillo) SOBRE CEPAS DE *Candida albicans* ATCC 10231. TRUJILLO, 2019". Así mismo para realizar el presente trabajo ha sido seleccionada su digna institución, por lo cual se solicita el permiso respectivo para que nuestro alumno pueda ejecutar con toda normalidad su proyecto de tesis en las instalaciones del local que dignamente usted dirige.

Es propicia la oportunidad, para reiterarle las muestras de mi especial consideración y estima personal.

Atentamente

  
CD. José Carlos Cordero  
COORDINADOR DE CARRERA ODONTOLÓGICA

Calle Aguamarina N°161 - 165 - Urb. San Inés - Trujillo - Perú  
Teléfonos: (044) 600569 / 600568  
Cel: 944425768  
www.uladech.edu.pe

## Anexo 4

### Constancia del Herbarium Truxillense



## Herbarium Truxillense (HUT)

Universidad Nacional de Trujillo  
Facultad de Ciencias Biológicas  
Jr. San Martín 392, Trujillo - Perú



Constancia N° 011 – 2019- HUT

EL DIRECTOR DEL HERBARIUM TRUXILLENSE (HUT) DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO.

Da Constancia de la determinación taxonómica de un (01) espécimen vegetal:

- Clase: Equisetopsida
- Subclase: Magnoliidae.
- Super Orden: Asterales
- Orden: Asterales
- Familia: Asteraceae
- Género: *Bidens*
- Especie: *B. pilosa* L.
- Nombre común: "cadillo"

Muestra alcanzada a este despacho por ANIBAL TORO HUATANGARE, identificado con DNI: 42464461, con domicilio legal en Mz. Z, Lte. 17 Urb. Covicorti, Trujillo. Estudiante de la Facultad de Ciencias de la Salud, Escuela Profesional de Odontología de la Universidad Católica los Ángeles de Chimbote- Sede Trujillo, cuya determinación taxonómica servirá para la realización del Proyecto de Tesis: "COMPARACIÓN *in vitro* DEL EFECTO ANTIFÚNGICO ENTRE DOS CONCENTRACIONES DEL EXTRACTO HIDROETANÓLICO DE HOJA VERSUS EXTRACTO DE FLOR DE *Bidens pilosa* L. "CADILLO" SOBRE CEPAS DE *Candida albicans* ATCC 10231- TRUJILLO- 2019".

Se expide la presente Constancia a solicitud de la parte interesada para los fines que hubiera lugar.

Trujillo, 22 de febrero del 2019



Dr. JOSE MOSTACERO LEON  
Director del Herbario HUT

cc. Herbario HUT

E- mail: [herbariumtruxillensehut@yahoo.com](mailto:herbariumtruxillensehut@yahoo.com)

**Anexo 5**  
**Constancia de asesoría**



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**

Trujillo, 21 de febrero del 2019

**CONSTANCIA DE ASESORÍA**

Yo, **DENIS ROMARIO GALLARDO PAREDES**, investigador asociado del laboratorio de Fitopatología de la Universidad Nacional de Trujillo.

Dejo constancia de haber asesorado al alumno **ANIBAL TORO HUANTANGARE** en las actividades microbiológicas tales como, activación de cepas, siembra de cultivos, enfrentamiento microbiológico y toma de medidas de los halos de inhibición, en el laboratorio de Fitopatología de la Universidad Nacional de Trujillo para el desarrollo de la tesis titulada "COMPARACIÓN in vitro DEL EFECTO ANTIFÚNGICO ENTRE DOS CONCENTRACIONES DEL EXTRACTO HIDROETANÓLICO DE HOJA VERSUS EXTRACTO DE FLOR DE *Bidens pilosa* L. (cadillo) SOBRE CEPAS DE *Candida albicans* ATCC 10231 -Trujillo 2019"

Atentamente,

Blgo. Mlgo. **DENIS ROMARIO GALLARDO PAREDES**

Investigador asociado a la Facultad de Ciencias Biológicas

Laboratorio de Fitopatología

Universidad Nacional de Trujillo

## Anexo 6

### EJECUCIÓN DEL PROYECTO



Selección de las mejores hojas y flores de *Bidens pilosa* L. (cadillo).



Proceso de secado de las hojas y flores de *Bidens pilosa* L. (cadillo) en la estufa.



Hojas disecadas de *Bidens pilosa* L. (cadillo).





Flores disecadas de *Bidens pilosa* L. (cadillo).



Proceso de pulverizado de hojas de *Bidens pilosa* L. (cadillo).



Proceso de pulverizado de flores de *Bidens pilosa* L. (cadillo).



Proceso de maceración de las hojas de *Bidens pilosa* L. (cadillo).



Proceso de maceración de flores de *Bidens pilosa* L. (cadillo).



Proceso de filtración del extracto tanto de hojas y flores de *Bidens pilosa* L.



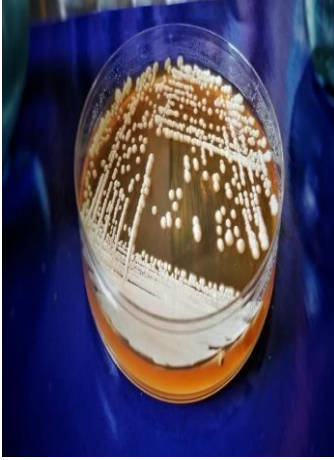
Extractos hidroetanólicos de hoja y flor de *Bidens pilosa* al 50% y 75%.



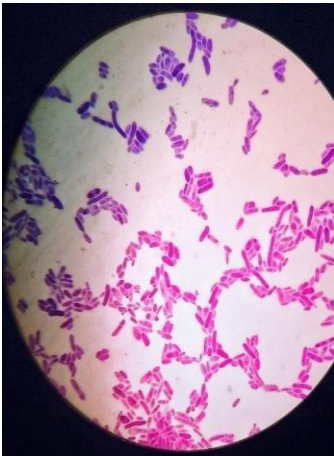
Crecimiento de *Candida albicans* ATCC 10231, en Agar Sabouraud y Caldo BHI.



Observación del crecimiento de *Candida albicans* ATCC 10231 en placa de Agar Sabouraud.



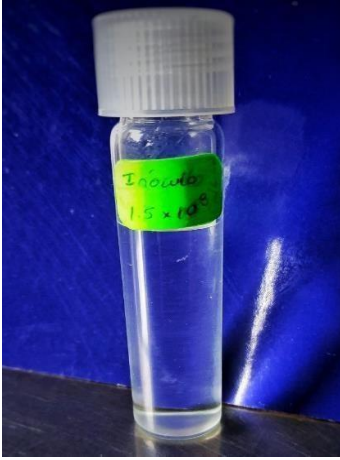
Colonias de *Candida albicans* ATCC 10231 en placa de Agar Sabouraud.



Observación microscópica a 100X de *Candida albicans* ATCC 10231.



Preparación de la suspensión de *Candida albicans* ATCC 10231



Suspensión de *Candida albicans* ATCC 10231 a una concentración de  $1.5 \times 10^8$  hongos/mL



Extractos hidroetanólicos de hoja y flor de *Bidens pilosa* al 50% y 75%.



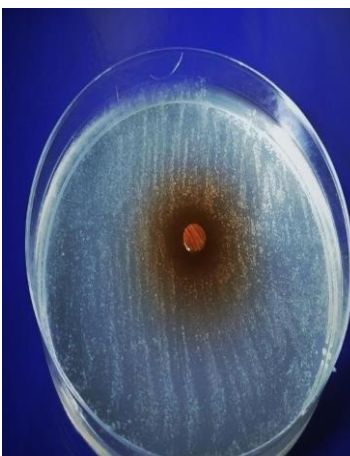
Siembra por superficie de *Candida albicans* ATCC 10231.



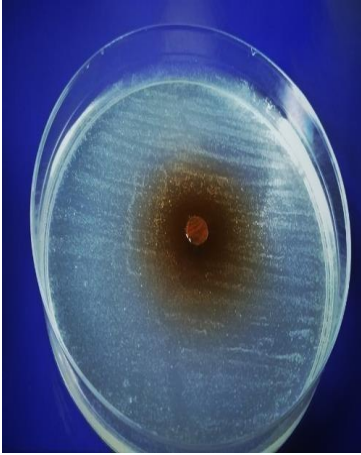
Colocación de discos con el extracto en evaluación para el método Kirby-Bauer frente a *Candida albicans* ATCC 10231.



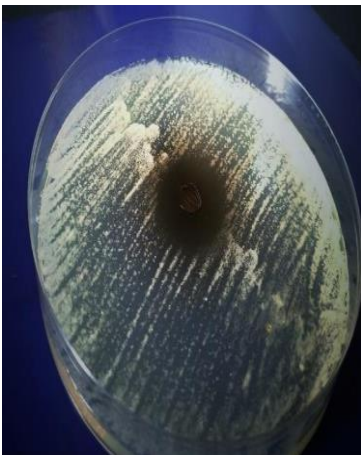
Incubación de las placas a 37°C durante 24 y 48 horas.



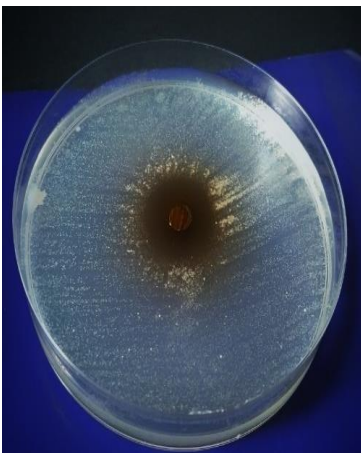
Halo de inhibición en el crecimiento de *Candida albicans* ATCC 10231 por el extracto hidroetanólico de hoja de *Bidens pilosa* al 50% contenido en el disco.



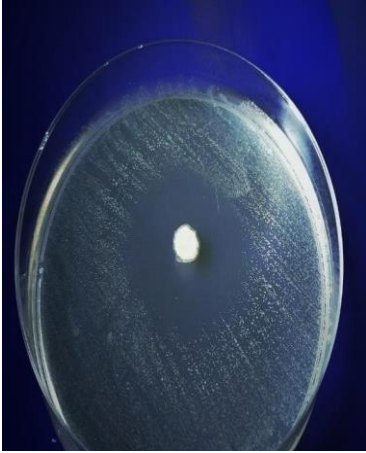
Halo de inhibición en el crecimiento de *Candida albicans* ATCC 10231 por el extracto hidroetanólico de hoja de *Bidens pilosa* al 75% contenido en el disco.



Halo de inhibición en el crecimiento de *Candida albicans* ATCC 10231 por el extracto hidroetanólico de flor de *Bidens pilosa* al 50% contenido en el disco.



Halo de inhibición en el crecimiento de *Candida albicans* ATCC 10231 por el extracto hidroetanólico de flor de *Bidens pilosa* al 75% contenido en el disco.



Halo de inhibición en el crecimiento de *Candida albicans* ATCC 10231 con el uso del antifúngico “Nistatina” contenido en el disco.



Medición del halo de inhibición en mm el crecimiento de *Candida albicans* ATCC 10231 con el uso del vernier.



## HOJA DE CONFLICTO DE INTERES

Mediante este documento declaro no presentar algún tipo de conflicto de intereses financieros, ni personales que influyan de manera inapropiada en el desarrollo de este estudio titulado: Comparación *in vitro* del efecto antifúngico entre dos concentraciones del extracto hidroetanólico de hoja versus extracto de flor de *bidens pilosa* L. (cadillo) sobre cepas de *candida albicans* ATCC 10231 -TRUJILLO 2019.

A handwritten signature in blue ink, followed by a blue ink fingerprint impression, both placed on a horizontal line.

Aníbal Toro Huatangare