



---

UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES  
CHIMBOTE

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD**

**ESCUELA PROFESIONAL DE ODONTOLOGÍA**

**EFEECTO ANTIFUNGICO IN VITRO DEL EXTRACTO  
ETANÓLICO DE LAS HOJAS DE *ANNONA MURICATA*  
SOBRE *CANDIDA ALBICANS* ATCC 10231, TRUJILLO -  
2019**

**TRABAJO DE INVESTIGACIÓN PARA OPTAR EL  
GRADO ACADÉMICO DE BACHILLER EN  
ESTOMATOLOGÍA**

**AUTOR  
BARRETO GAVELAN, MARY LINA  
ORCID: 0000-0002-4687-1739**

**ASESOR  
REYES VARGAS AUGUSTO ENRIQUE  
ORCID: 0000-0001-5360-4981**

**TRUJILLO – PERÚ**

**2021**

**1. Título de la tesis**

**EFFECTO ANTIFÚNGICO IN VITRO DEL EXTRACTO ETANÓLICO  
DE LAS HOJAS DE ANNONA MURICATA SOBRE CANDIDA  
ALBICANS ATCC 10231 - TRUJILLO, 2019**

## **2. Equipo de trabajo**

### **AUTOR**

Barreto Gavelan, Mary Lina

ORCID: 0000-0002-4687-1739

Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote, Estudiante de Pregrado, Trujillo,  
Perú

### **ASESOR**

Reyes Vargas Augusto Enrique

ORCID: 0000-0001-5360-4981

Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote, Facultad de Ciencias de la  
Salud, Escuela Profesional de Odontología, Trujillo, Perú

### **JURADO**

San Miguel Arce, Adolfo Rafael

ORCID: 0000-0002-3451-4195

Canchis Manrique, Walter Enrique

ORCID: 0000-0002-0140-8548

Zelada Silva, Wilson Nicolás

ORCID: 0000-0002-6002-7796

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

---

Mgtr. SAN MIGUEL ARCE, ADOLFO RAFAEL

**Presidente**

---

Mgtr. CANCHIS MANRIQUE, WALTER ENRIQUE

**Miembro**

---

Mgtr. ZELADA SILVA, WILSON NICOLÁS

**Miembro**

---

Mgtr.. REYES VARGAS AUGUSTO ENRIQUE

**Asesor**

#### **4. Agradecimiento y dedicatoria**

##### **Agradecimiento**

*A Dios, porque ha sido quien ha forjado mi camino y me ha dirigido al camino correcto guiándome siempre mi vida.*

*A mis padres, porque es el cimiento de mi desarrollo, por brindarme aportes invaluableles que servirán para toda mi vida y por apoyarme en cada paso que eh dado.*

## **Dedicatoria**

*A mi padre por su amor y comprensión, por todo su apoyo en cada paso que doy y por ser el motor de mi vida.*

*A mis madre que con sus palabras de aliento me motivaban a seguir adelante y a perseverar por mis sueños e ideas.*

## 5. Resumen

El presente estudio tuvo como objetivo determinar el efecto antifúngico in vitro del aceite esencial de *Annona muricata* al 5%, 10% y 15 % sobre *Candida albicans*,

**Material y métodos:** La población estuvo conformada por cepas de *Candida albicans* ATCC 10231. El diseño metodológico fue experimental, prospectivo, transversal y analítico de tipo cuantitativo y nivel explicativo. Para este estudio se recolectó e identificó la planta de guanábana de la cual las plantas fueron obtenidas de la Universidad Nacional de Trujillo del área de Farmacia, sometiéndose a análisis botánico para determinación y certificación de la especie: *Annona muricata*. Se preparó el extracto etanólicos, se tuvo como control positivo (nistatina 0.02%) y negativo etanol de 96°. *Candida albicans* se reactivó y sembró a escala Mc Farland ( $1,5 \times 10^8$  UFC/ml). se elaboraron extractos de las hojas en diferentes concentraciones, 5, 10 y 15% las cuales fueron enfrentadas a cepas de *Candida albicans* en medio de cultivo en Caldo Brain Heart Infusion (BHI). El efecto antifúngico se evaluó mediante el método de Kirby Bauer. **Resultados:** El extracto al 5% obtuvo una media de 0.0 mm, al 10% una media de 15.31 mm, y al 15% una media 24.20 mm. **Conclusiones:** El extracto etanólico de hoja de *Annona muricata* presentó efecto antifúngico en las tres concentraciones frente a *Candida albicans* ATCC 10231. Para determinar el efecto antifúngico del extracto etanólico de *Annona muricata* sobre *Candida albicans* se realizará la prueba de comparaciones múltiples de Turkey. Todas las pruebas estadísticas tendrán un nivel de significancia del 5%. Se contará con el apoyo de una hoja de cálculo de Microsoft Excel y el programa statgraphics

**Palabras clave:** Antifungico, *Candida albicans*, Extracto, Guanábana.

## Abstract

The objective of this study will be to determine the in vitro antifungal effect of the essential oil of *Annona muricata* at 5%, 10% and 15% on *Candida albicans*, Material and methods: The population consisted of strains of *Candida albicans* ATCC 10231. The methodological design It was experimental, prospective, cross-sectional and analytical of a quantitative type and explanatory level. For this study, the soursop plant was collected and identified, from which the plants were obtained from the National University of Trujillo in the Pharmacy area, undergoing botanical analysis for the determination and certification of the species: *Annona muricata*. The ethanolic extract was prepared, it was had as a positive control (nystatin 0.02%) and a negative 96 ° ethanol. *Candida albicans* was reactivated and seeded at Mc Farland scale ( $1.5 \times 10^8$  CFU / ml). Leaf extracts were made in different concentrations, 5, 10 and 15%, which were confronted with *Candida albicans* strains in a culture medium in Brain Heart Infusion Broth (BHI). The antifungal effect was evaluated by the Kirby Bauer method. Results: The 5% extract obtained an average of 0.0 mm, at 10% an average of 15.31 mm, and at 15% an average of 24.20 mm. Conclusions: The ethanolic extract of *Annona muricata* leaf presented antifungal effect in the three concentrations against *Candida albicans* ATCC 10231. To determine the antifungal effect of the ethanolic extract of *Annona muricata* on *Candida albicans*, Duncan's multiple comparison test will be carried out. All statistical tests will have a significance level of 5%. It will be supported by a Microsoft Excel spreadsheet and the statgraphics program

**Keywords:** Antifungal, *Candida albicans*, Extract, Soursop

## 6. Contenido

1. Título de la tesis .....	ii
2. Equipo de trabajo .....	iii
3. Hoja de firma del jurado y asesor .....	iv
4. Agradecimiento y dedicatoria.....	v
5. Resumen y abstract .....	vi
6. Contenido .....	vii
7. Índice de gráficos, tablas y cuadros...	viii
<b>I. Introducción</b> .....	1
<b>II. Revisión de literatura</b> .....	3
2.2.1. Candidiasis.....	12
2.2.2 Epidemiología.....	13
2.2.3 Etiología.....	13
2.2.4 Factores Generales.....	13
2.2.5 Factores Locales.....	14
2.2.6 <i>Candida albicans</i> .....	14
2.2.7 Características.....	15
2.2.8 Saliva.....	16
2.2.9 pH.....	16
2.2.10 Adherencia.....	16
2.2.11 Hifas.....	17
2.2.12 <i>Annona muricata</i> .....	17
2.2.13 Hojas.....	18
2.2.14 Flores.....	18
2.2.15 Frutos y semillas.....	18
2.2.16 Actividad antifúngica.....	19

2.2.17 Compuestos químicos.....	21
<b>III. Hipótesis .....</b>	<b>22</b>
<b>IV. Metodología .....</b>	<b>23</b>
4.1. Diseño de la investigación .....	23
4.2. Población y muestra .....	24
4.3. Definición y operacionalización de variables e indicadores.....	26
4.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos .....	27
4.5. Plan de análisis .....	34
4.6. Matriz de consistencia. ....	35
4.7. Principios éticos .....	36
<b>V. Resultados .....</b>	<b>37</b>
5.1 Resultados .....	39
5.2. Análisis de Resultados .....	40
<b>VI. Conclusiones .....</b>	<b>42</b>
Aspectos complementarios .....	42
Referencias Bibliográficas .....	43
Anexos .....	51

## 7. Índice de tablas

<b>Tabla 1:</b> Efecto antifúngico <i>in vitro</i> de hoja de <i>Annona muricata</i> sobre <i>Candida albicans</i>	ATCC
10231.....	35

<b>Tabla 2:</b> Prueba de Duncan del efecto antibacteriano <i>in vitro</i> de hoja de <i>Annona muricata</i> sobre <i>Candida albicans</i>	ATCC	10231
.....		36

## Índice de gráficos

<b>Gráfico 1:</b> efecto antifúngico <i>in vitro</i> de tres concentraciones del extracto etánolico de hoja de <i>Annona muricata</i> sobre <i>Candida albicans</i> ATCC 10231.....	39
---	----

## I. Introducción

Desde la antigüedad la población en todo el mundo, ha reconocido las propiedades de las plantas con un fin de curar alguna dolencia. (1)

Los aceites esenciales son compuestos formados por sustancias orgánicas volátiles, que pueden ser alcoholes, acetonas, cetonas, ésteres, aldehídos, los cuales se producen y almacenan en los canales secretores de las plantas. (2) La utilización de los aceites esenciales como sustancias medicinales es una alternativa fitoterapéutica que actualmente se encuentra en constante desarrollo, ya que cada vez experimentan los productos naturales desde hace unas décadas en los países más desarrollados. (3-4)

La *Annona muricata* también llamada como guanábana es un árbol de hoja perenne en flor nativo de México, Cuba, América Central y partes de la India. El árbol milagroso, ya que es ampliamente conocido como un asesino natural del cáncer que es 10,000 veces más fuerte que la quimioterapia. Sobre la base de estas afirmaciones milagrosas, las hojas de estas plantas se usaron como extracto en concentraciones variables como agente antifúngico contra los patógenos orales. (5)

*Candida albicans* es de gran importancia estomatológica, por su frecuencia y variedad clínica. Estas infecciones se observan

frecuentemente en personas con distintos tipos de factores predisponentes. Las formas clínicas de *Candida albicans* son variables y se han usado diferentes clasificaciones, ya que la mayoría de las personas lo presenta, pero no está muy desarrollado.(6) Este estudio experimental tendrá como objetivo determinar el efecto antifúngico in vitro del extracto etanólico de *Annona muricata* sobre *Candida albicans*, lo cual servirá para futuros estudios clínicos o para la fabricación de fármacos de bajo costo sin efectos aditivos.

La investigación se realizó con la finalidad de responder al enunciado del problema ¿Existe efecto antifúngico in vitro del extracto etanólico de *Annona muricata* sobre *Candida albicans* en Uladech Católica distrito de Trujillo, durante el semestre académico 2019 - II? El objetivo general es: Determinar efecto antifúngico in vitro del extracto etanólico de *Annona muricata* sobre *Candida albicans* ATCC 10231. Y los objetivos específicos: : Evaluar el efecto antifúngico in vitro del extracto etanólico de las hojas de *Annona muricata* al 5 % sobre *Candida albicans*. Evaluar el efecto antifúngico in vitro del extracto etanólico de las hojas de *Annona muricata* al 10 % sobre *Candida albicans* ATCC 10231. Evaluar el efecto antifúngico in vitro del extracto etanólico de las hojas de *Annona muricata* al 15 % sobre *Candida albicans* ATCC 10231.

## II. Revisión de la literatura

### Internacionales:

**Mgbeahuruike A. (Nigeria, 2021) Título:** Evaluación del potencial antimicrobiano de extractos de semillas de *Annona Muricata* sobre patógenos bacterianos y fúngicos resistentes de importancia para la salud pública. **Objetivo:** Determinar el efecto antimicrobiano de *Annona muricata* sobre *Corynebacterium renale* resistente a múltiples fármacos aislado de aves y un patógeno fúngico *Candida albicans*. **Tipo de estudio:** Realizo un trabajo de investigación de diseño transversal, prospectivo y observacional. **Población / muestra:** La población y muestra estuvieron conformadas por discos en difusión de agar. **Materiales y métodos:** El aislado de se caracterizó mediante métodos bioquímicos y morfológicos; y se evaluó la susceptibilidad a los antibióticos mediante un panel de 8 antibióticos. El perfil de resistencia del aislado de se comparó con *C. albicans* utilizando extractos de semillas (hexano, éter etílico y etanol) de *Annona muricata*. a diferentes concentraciones. **Resultados:** . Los extractos de hexano y éter etílico mostraron una actividad casi similar en el aislado de *C. albicans* en todas las concentraciones ensayadas. El extracto de etanol mostró el mayor ZI de  $17,60 \pm 1,67$  mm en *C. albicans* a 400 mg / ml y esto fue estadísticamente significativo ( $P = 0,05$ ) en comparación con las otras concentraciones. **Conclusión:** Los

extractos de plantas (etanol y éter etílico) mostraron efectos antimicrobianos apreciables a 400 mg / ml y, por lo tanto, podrían actuar como un fármaco potencial para la terapia antifúngica frente a *Candida Albicans*. (7)

**León A. (México, 2020) Título:** Efecto antibacterial, antifúngico, antioxidante y tóxico de extractos fraccionados de pulpa de Guanábana. **Objetivo:** Determinar el efecto antibacterial, antifúngico, antioxidante y tóxico de extractos fraccionados de pulpa de Guanábana. **Tipo de estudio:** Realizo un trabajo de investigación de diseño transversal, prospectivo y observacional. **Población / muestra:** La población y muestra estuvieron conformadas por 18 discos de las cepas que fueron resebradas en agar PDA a 28 °C. **Materiales y métodos:** En este estudio se evaluó la actividad antifúngica, tóxica y antioxidante de 15 extractos fraccionados, obtenidos a partir de tres fracciones (F1, F2 y F3) de cada una de las siguientes muestras: pulpa fresca, pulpa congelada almacenada durante 3, 6 y 12 meses y pulpa tratada térmicamente (70 °C, 30 min) de guanábana (*Annona muricata L.*). **Resultados:** La fracción F3 fue más efectiva como antifúngica y antioxidante; sin embargo, la fracción F3 de pulpa fresca, tuvo la mayor actividad (18 y 20 mm de halo de inhibición, respectivamente); así mismo un 59 % y 38 % de inhibición, además presentó la más alta

actividad antioxidante (79 %). **Conclusión:** los extractos de pulpa de guanábana pueden ser una alternativa para el desarrollo de productos orgánicos antibacteriales, como pre-tratamiento para el control biológico de enfermedades poscosecha y pueden ser estudiados, por su toxicidad, desde el punto de vista farmacéutico.(8)

**Rustanti E. (Indonesia, 2019) Título:** Efecto antifúngico de la fracción clorofórmica del etanol extraer hojas de guanábana (*Annona muricata, L.*). **Objetivo:** Determinar la actividad antifúngica del extracto etanólico de guanábana sobre *Candida albicans*. **Tipo de estudio:** Realizo un trabajo de investigación de diseño transversal, prospectivo y observacional. **Población / muestra:** La población y muestra estuvieron conformadas por discos en difusión de agar. **Materiales y métodos:** Mediante el método de difusión con una variación de concentración del 10%, 20% y 30%, luego identificados por espectrofotometría UV-VIS y FTIR para determinar compuestos activos como antifúngicos. **Resultados:** Los resultados mostraron que la fracción clorofórmica de la hoja de Guanábana tuvo la mayor actividad antifúngica a una concentración del 30% con un diámetro inhibidor de 25,4 mm que se clasificó como fuerte. **Conclusión:** Se concluye que la hoja de Guanábana tuvo la mayor actividad antifúngica a una concentración del 30%.(9)

**Wahyuningsih R. (Indonesia, 2019) Título:** Prueba de actividad antifúngica del extracto de infusión de hojas de sirsak contra *Candida albicans*. **Objetivo:** determinar la actividad de la infusión de hojas de guanábana para inhibir o matar el crecimiento del hongo *Candida albicans*. **Tipo de estudio:** Realizo un trabajo de investigación de diseño transversal, prospectivo y observacional. **Población / muestra:** La población y muestra estuvieron conformadas por discos en difusión de agar. **Materiales y métodos:** El método utilizado es el método de dilución. Se observó actividad antifúngica al observar la claridad y la turbidez en un 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,13%; 1,56%; 0,79%; 0,40%; 0,20% y 0,10%. El medio utilizado fue medio SGA (Sabouraud Glucose Agar) añadido con 75 ppm de antibióticos cloranfenicol y medio SGC (Sabouraud Glucose Liquid). **Resultados:** La infusión de hojas de guanábana tiene actividad inhibidora y mata el crecimiento del hongo *Candida albicans*. La infusión de hojas de guanábana mostró mejor efecto antifúngico a una concentración del 12,5%. **Conclusión:** Se concluye que la hoja de Guanábana tiene actividad antifúngica frente *Candida Albicans*.(10)

**Fisabilillah M. (Indonesia, 2019) Título:** Efecto del extracto de hoja de Guanabana (*Annona muricata*) contra la sepa de *Candida albicans*. **Objetivo:** Examinar el efecto del extracto de hoja de guanábana (*Annona muricata*) sobre el crecimiento de los hongos *Candida albicans*. **Tipo de estudio:** Realizo un trabajo de investigación de diseño transversal, prospectivo y observacional. **Población / muestra:** La población y muestra estuvieron conformadas por discos en difusión de agar. **Materiales y métodos:** El extracto etanólico de hoja de guanábana se obtuvo mediante el método de maceración utilizando disolvente etanol al 70%. Ensayo de actividad antifúngica mediante el método de difusión con la concentración de extracto de hoja de guanábana 20%, 40%, 60%, 80% y 100%. **Resultados:** que el extracto etanólico de la hoja de guanábana no puede inhibir el crecimiento de hongos *Candida albicans*. **Conclusión:** El contenido antifúngico en el extracto de hoja de guanábana no es lo suficientemente fuerte como para inhibir el crecimiento de hongos *Candida albicans*.(11)

**Handayani P. (Indonesia, 2019) Título:** Investigación de extracto de hojas de sirsak (*Annona muricata* L.) sobre el crecimiento de hongos *Candida albicans*. **Objetivo:** Determinar la inhibición antifúngica del extracto de hoja de

guanábana ( *Annona muricata* L.) sobre el crecimiento de *Candida albicans*. **Tipo de estudio:** Realizo un trabajo de investigación de diseño transversal, prospectivo y observacional. **Población / muestra:** La población y muestra estuvieron conformadas por discos en difusión de agar. **Materiales y métodos:** Este estudio utilizó el método de difusión en placa de agar ( Kirby Bauer ). El extracto de hoja de guanábana se dividió en 5 tratamientos y 3 repeticiones. El tratamiento utilizado fue la concentración de 5% (P1), 15% (P2), 25% (P3), 35% (P4) y 45% (P5). **Resultados:** Los resultados mostraron que el extracto de hoja de guanábana tenía un poder inhibidor contra el crecimiento del hongo *Candida albicans* a saber, a una concentración de 5% de 0,85 mm, 15% de 1,45 mm, una concentración de 25% de 1,48 mm y un control positivo de 9,83 mm. Mientras tanto, a concentraciones del 35%, 45% y control negativo, no se formó ninguna zona de inhibición en el medio SDA. **Conclusión:** Con base en los resultados de la investigación, se puede concluir que el extracto de hoja de guanábana puede inhibir el crecimiento del hongo *Candida albicans*. (12)

**Mithun B. (India, 2016) Título:** Eficacia antimicrobiana del extracto de hoja de guanábana (*Annona muricata*) sobre patógenos orales: un estudio in vitro. **Objetivo:** Evaluar la

eficacia antimicrobiana del extracto de hoja de guanábana (*Annona muricata*) en *Streptococcus mutans* , *Streptococcus mitis* , *Porphyromonas gingivalis* , *Prevotella intermedia* y *Candida albicans* mediante el método de difusión por disco.

**Tipo de estudio:** Realizo un trabajo de investigación de diseño transversal, prospectivo y observacional. **Población / muestra:** La población y muestra estuvieron conformadas por discos en difusión de agar. **Materiales y métodos:** Se prepararon extractos de hojas de *Annona muricata* de concentraciones de 1%, 5%, 10%, 15% y 20%. La eficacia antimicrobiana se evaluó mediante el método de difusión en disco contra *Streptococcus mutans* , *Streptococcus mitis* , *Porphyromonas gingivalis* , *Prevotella intermedia* y *Candida albicans* en placas de agar. **Resultados:** Todas las concentraciones de extractos fueron efectivas sobre la microbiota excepto P. Intermedia . El extracto de Guanábana fue altamente efectivo en especies de Candida , con todas las concentraciones exhibiendo propiedades bactericidas y fungicidas. **Conclusión:** Hasta cierto punto que el extracto de guanábana cuando se usa contra la microbiota oral tiene suficientes propiedades antimicrobianas y fungicidas.(13)

## Nacionales:

**Huamán E. (Huancayo, 2018) Título:** Análisis de la actividad antimicrobiana del extracto etanólico de *Annona muricata* frente a microorganismos patógenos - Huancayo 2017. **Objetivo:** Determinar la actividad antimicrobiana de la *Annona muricata*, una especie de guanábana, frente a microorganismos patógenos durante el año 2017. **Tipo de estudio:** Realizo un trabajo de investigación de diseño transversal, prospectivo y observacional. **Población / muestra:** La población y muestra estuvieron conformadas por discos en difusión de agar. **Materiales y métodos:** La determinación de la actividad antimicrobiana se realizó a través de la comparación de tres muestras, en las que bajo la técnica de incorporación se depositaron las cepas bacterianas, el extracto etanólico y un marcador antibiótico que sirvió de comparación y que fueron los discos de Amikacina. **Resultados:** Se encontró que dos de las tres cepas bacterianas fueron sensibles al extracto etanólico de la *Annona muricata*, presentando en promedio 13mm de halo inhibitorio para *E. coli* y 12.6 mm para *C. Albicans*. **Conclusión:** Se concluye que el extracto etanólico de *annona muricata* tiene actividad antifúngica frente *Candida Albicans*.(14)

**Ruiz J. (Lima, 2005) Título:** Determinación de la actividad antifúngica contra *Candida albicans* y *Aspergillus niger* de 10 plantas medicinales de 3 departamentos del Perú. **Objetivo:** Determinar la actividad antifúngica in vitro de doce extractos etanólicos correspondientes a diez plantas medicinales peruanas. **Tipo de estudio:** Realizo un trabajo de investigación de diseño transversal, prospectivo y observacional. **Población / muestra:** La población y muestra estuvieron conformadas por discos en difusión de agar. **Materiales y métodos:** La actividad antifúngica se evaluó mediante los métodos de difusión en agar y dilución en agar para la determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI). Los microorganismos de prueba utilizados fueron las levaduras *Candida albicans* ATCC 10231 y *Candida albicans* cepa clínica, así como, el hongo filamentoso *Aspergillus niger* ATCC 16404; las cepas fueron proporcionadas por la Cátedra de Microbiología de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. **Resultados:** De doce extractos investigados, seis presentaron actividad antifúngica consistente con un diámetro de halos de inhibición  $\geq 18$ mm (Prueba de Difusión en agar) frente a *Candida albicans* ATCC 10231. Ningún extracto mostró actividad consistente frente a la cepa clínica de *Candida albicans* y *Aspergillus niger* ATCC 16404. **Conclusión:** Con estos resultados se concluyó que el extracto de las hojas de *Annona*

*muricata* Guanábana presenta actividad antimicótica frente a *Candida albicans*.(15)

**Locales:**

**Mamani G. (Trujillo, 2015) Título:** Evaluación del efecto antifúngico del extracto hidroalcohólico de *Annona muricata* (Guanábana) por el método de difusión en placa sobre cepas de *Candida albicans* ATCC 10231. **Objetivo:** Determinar la actividad antifúngica del extracto hidroalcohólico de las hojas *Annona muricata* Guanábana sobre cepas de *Candida albicans* ATCC 10231. **Tipo de estudio:** Realizo un trabajo de investigación de diseño transversal, prospectivo y observacional. **Población / muestra:** La población y muestra estuvieron conformadas por discos en difusión de agar. **Materiales y métodos:** Se estudió la actividad antifúngica utilizando el método de difusión en placa, sobre cepas de *Candida albicans*. **Resultados:** Se observó que a la concentración de 60mg/ml el extracto presenta una actividad antifúngica con un halo de inhibición de 14mm en promedio a las 24 horas, a la concentración de 60 mg/ml el extracto presenta una actividad antifúngica con un halo de inhibición de 17mm en promedio a las 48 horas. **Conclusión:** Con estos resultados se concluyó que el extracto de las hojas de *Annona muricata* Guanábana presenta actividad antimicótica frente a *Candida albicans*.(16)

## 2.1 Marco teórico

### Candidiasis.

*Candida albicans* viene del griego Candidus que significa blanco y albicare significa blanca, este es un hongo dimorfo asexual y saprófito, viene de la familia de los Sacaromicetos. Está formando células gemantes subesféricas estas llegan a medir alrededor de 3-7 x 2-6  $\mu\text{m}$ , estas células tienen una función muy importante en la digestión, asimilando y fermentando los azúcares. Se caracteriza por presentar crecimiento rápido, sus colonias presentan forma circular de consistencia pastosa, se caracteriza por su olor a levadura, la encontramos presente en la cavidad bucal en los tractos digestivo y respiratorio al igual que la vemos presente en la vagina. (17)

*Candida* presenta levaduras que se encuentran en todos los seres humanos sanos, para su crecimiento suele verse gracias al sistema inmunológico, todos los seres humanos presentan bacterias, microorganismos, que están presentes en el mismo lugar del organismo, o por la presencia de reseca de la piel, ya que *Candida* necesita un ambiente húmedo para su reproducción. (17)

### **Epidemiología:**

La candidiasis es una enfermedad cosmopolita, y una de las micosis más importantes y de mayor frecuencia en la cavidad bucal, en casos más frecuentes afecta a ambos sexos, y cualquier edad. (18)

*Candida* es uno de los géneros más son habitantes en boca, sistema gastrointestinal, vagina y piel, por lo que está considerado como uno de los agentes más infecciosos endógenos. (18)

### **Etiología**

*C. albicans* es el agente causal de la candidiasis, aunque otros hongos de la especie pueden ser también patógenos par el hombre. Se convierte en patógeno de la cavidad bucal cuando se presenta este hongo dentro de la boca, hay diferentes factores sistémicos tanto generales como locales. (18)

### **Factores generales: (18)**

- Diabetes o prediabetes.
- Leucemias.
- Cánceres diseminados.

- Obesidad.

**- Factores locales: (18)**

- Prótesis removibles (estomatitis subplaca).
- Xerostomía.
- Disminución de la dimensión vertical (comisural).
- Falta de higiene

***Candida albicans:***

*Candida albicans* en la cavidad oral no es indicativo de enfermedad. En muchos individuos, *C. albicans* es un componente menor de su flora oral, y no tienen síntomas clínicos. En ciertos sectores de la población, sin embargo, la candidiasis oral ocurre con frecuencia y requiere terapia antifúngica. Las presentaciones orales de la candidiasis varían desde las grandes placas blancas de la candidiasis pseudomembranosa en la lengua y la mucosa bucal. (19)

Generalmente *Candida albicans* se encuentra en más del 80% de todas levaduras orales aisladas y sumamente difundidas debido a su origen endógeno. (19)

### **Cultivos selectivos para *Candida***

En cuanto a cultivos selectivos o agares selectivos para *Candida*, tenemos el agar sabouraud con glucosa. Es un medio con un pH bajo, y se utiliza mucho porque es selectivo en parcialidad para hongos y también es de elección por su grado muy elevado de glucosa, este agar sin duda es adecuado para “incubación” de hongos y la literatura refiere que se han usado muchos inhibidores bacterianos. (20)

Se refiere por lo tanto que el clorafenicos, la penicilina, o amino glucósidos o cuando estos son combinados, son muy efectivos para eliminar bacterias mas no para eliminar la *Candida*. En el agar sabouraud son fuente de nitrógeno, las peptonas. La dextrosa o también conocida como glucosa es una fuente de energía para que estos hongos crezcan. (20)

### **Características:**

*Candida albicans* presentan diferentes manifestaciones clínicas, la formación de biopelículas de la superficie están asociadas a los biomateriales utilizados en práctica clínica. *Candida albicans* es un hongo dimórfico, es decir, crece de diferente manera en función de la T° de crecimiento, como levadura, habitualmente a 37°C en el huésped, y como hongo de presencia filamentoso, a 25°C en la naturaleza. Corresponde

al filo Ascomycota y procrea de modo asexual por gemación.  
(21)

### **Distribución oral de *Candida* según factores específicos:**

#### **Saliva:**

La evidencia científica refleja que la saliva como tal tiene efecto reductor en la capacidad de *C. albicans* lo cual tiene mayor adherencia a las prótesis dentales hechas de acrílico, mientras que el suero, tiene más posibilidad de entrar a la cavidad bucal, provocando una lesión en la cavidad bucal, esto hace que aumente la adhesión. (22)

Se ha determinado que mientras halla reducción de humedad en mucosa oral, favorece la disminución de bacterias como *Staphylococcus aureus*., ya que esta bacteria necesita niveles altos de humedad. (22)

#### **pH:**

En la mayoría de casos el medio ácido del pH favorece la colonización de la mucosa oral, para otras especies de *Candida*. (22)

De igual forma se ha visto que en pacientes con presencia de placa bacteriana que usan prótesis removibles, presenta valores bajos de pH, por lo cual estos pacientes mantienen dietas ricas en glucosa y sacarosa. (22).

### **Adherencia:**

Se ha sugerido que dentro de la adherencia está involucrado las interacciones de *Candida*, por lo que presentan mayor adherencia a las células de la mucosa bucal y a las prótesis hechas de acrílico, los cuales se presentan durante la fase estacionaria que cuando están en la fase exponencial de crecimiento. (23)

### **Hifas:**

Existe un acuerdo entre la mayoría de los investigadores con respecto a que las hifas de *C. albicans* están asociadas con su capacidad invasiva.<sup>28</sup>

Se ha demostrado que existe una estrecha correlación entre la formación del tubo germinal y el incremento de la adherencia de *C. albicans* a las células epiteliales bucales, por lo que se ha sugerido ser uno de los mecanismos relacionados con la virulencia por parte de las especies de *Candida*. (24)

### **Guanábana : *Annona muricata***

La guanábana pertenece a la familia pertenece a la familia *Annonaceae* y es originaria de América. Su etimología procede del arawak wanabán (Tierra Americana, 1999). El árbol frutal crece proyectándose para la industria de la perfumería, ya que son utilizadas las hojas y las semillas de la planta. (25)

Es un árbol pequeño de aproximadamente 6 hasta 10 metros de altura. Presenta un tronco recto, corteza lisa y ramas delgadas.

(25)

### **Hojas**

Las hojas presentan forma ovalada, mayormente elípticas, de aproximadamente 5 a 15 cm de largo por 2-6 cm de ancho, de color verde oscuro, mayormente cortas y poco redondeadas en su base. (26)

## **Flores**

Las flores, presentan formas de ramitas cortas pegadas al tronco. Presentan 3 sépalos verdes y 6 pétalos de color cremoso. Presentan abundantes ovarios. (27)

## **Frutos y Semillas**

La guanábana presenta el fruto más grande de su género. Mide aproximadamente de 14 a 40 cm de largo y 12 a 18 cm de ancho, es asimétrico, elipsoidal u ovoide, está protegida por una capa delgada de color verde oscuro, también presenta pequeñas espinas sobre la cascara de 0,3 a 0,5 . (28)

La fruta es considerada como tropical que es exótica, climatérica, presenta características que se utilizan como potencial de un producto fresco o transformado. (28)

## **Composición química**

Las hojas de guanábana contienen flavonoides, polifenoles y proteínas.

Asociados a sus efectos terapéuticos encontramos:

- Vitaminas
- Taninos

- Aceites esenciales

- Alcoholes

Por un lado, se debe recalcar su alto contenido de taninos (tanto de la familia de los catecoles como de los pirogaloles), en una proporción muy elevada que puede llegar a 30% en la corteza y que en las hojas alcanza a 8-15%, con una concentración similar en los frutos verdes, que pierden su tanino al madurar.

(28)

### **Propiedades medicinales**

Esta planta posee cualidades astringentes ayudando a superar la diarrea y aliviar los cuadros intestinales como la gastroenteritis, puesto que al gran número de flavonoides y taninos. (28)

La gran cantidad de flavonoides y taninos que presenta ayuda a tonificar y preservar firme la piel y no grasosa. Siendo rebosante en vitaminas A, B, C y potasio otorga antioxidantes y desintoxicantes que sostiene la piel saludable. (28)

Igualmente acorta grados de presión arterial y colesterol en sangre, previene la diabetes, sostiene grados estables de glucosa, retarda los modos de absorción de azúcar en el cuerpo, y previene enfermedades

degenerativas por el contenido de ácido ascórbico. (28)

### III. Hipótesis de Investigación:

H<sub>I</sub>: Existe efecto antifúngico in vitro del extracto etanólico de las hojas de *Annona muricata* sobre *Candida albicans* ATCC 10231.

#### Hipótesis Estadísticas

H<sub>0</sub>: No existe efecto antifúngico in vitro del extracto etanólico de las hojas de *Annona muricata* sobre *Candida albicans* ATCC 10231

H<sub>A</sub>: Si existe efecto antifúngico in vitro del extracto etanólico de las hojas de *Annona muricata* sobre *Candida albicans* ATCC 10231.

## **IV. Metodología**

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

### **4.2 Tipo de investigación**

- Experimental, el investigador ha registrado los resultados después de realizar una intervención que se aplica a uno o más grupos (30). En este estudio se manipuló las concentraciones del extracto etanólico de hoja de *Annona muricata*.
- Prospectivo, el investigador registra los eventos a partir de los hechos ocurridos (30). Este estudio se midieron los resultados según los objetivos y se colocó en la ficha de recolección de datos.
- Transversal, los datos fueron tomados en un momento en el tiempo (30). En este estudio los efectos antifungicos fueron medidos a las 48 horas de ser expuestos a los extractos.
- Analítico, se analizaron los resultados para verificar si causa el efecto.

### **Nivel de investigación:**

La presente investigación es de nivel: explicativo.

Explica el comportamiento de las diferentes concentraciones en una variable; por ser estudios de causa-efecto requieren control y debe cumplir otros criterios de casualidad. El control estadístico es multivariado a fin de descartar asociaciones

aleatorias, casuales o espurias entre la variable independiente y dependiente”.(30)

#### **Diseño de investigación:**

La investigación es de diseño experimental: experimento puro de grupos en paralelo. Se toman grupos, luego a cada grupo se le miden a cada uno por separado. (30)

### **4.3 Población y muestra**

#### **Población**

Estuvo “conformada por el conjunto de placas Petri con siembra adecuada de *Candida albicans* con diferentes concentraciones del extracto etanólico de las hojas de *Annona muricata* en el laboratorio de microbiología de la Universidad Nacional de Trujillo.

#### **Criterios de inclusión**

Placa Petri inoculada con *Candida albicans* ATCC 10231 en medio de cultivo.

#### **Criterios de exclusión**

Placa Petri con signos de contaminación.

## Muestra

### Tamaño de Muestra

El tamaño de muestra para el presente estudio se calculó utilizando la fórmula de comparación de medias.

$$n = \frac{(Z_{\alpha/2} + Z_{\beta})^2 2s^2}{(x_1 - x_2)^2}$$

Dónde:

$Z_{\alpha/2} = 1.96$ ; coeficiente de la distribución normal para un  $\alpha = 0.05$

$Z_{\beta} = 0.84$ ; coeficiente de la distribución normal para un  $\beta = 0.20$

$S = 0.8 (x_1 - x_2)$  el cual es un valor asumido por no estar bien definidos los valores paramétricos en estudios similares. <sup>28</sup>

Luego Reemplazando obtenemos:

$$n = 10 \text{ placas}$$

Es decir, se necesitaron 10 placas seleccionadas aleatoriamente para cada grupo de tratamiento. En total fueron 5 grupos: 10 placas para cada concentración del 5%, 10%, del 15%, 10 placas para el control negativo y 10 placas para el control positivo.

#### 4.4 Definición y operacionalización de variables e indicadores

Variable	Definición Conceptual	Tipo de Variable	Escala de Medición	Indicador	Valores
Independiente  Extracto etanólico de las hojas de <i>Annona muricata</i> .	El extracto etanólico es obtenido mediante destilación Arrastre a vapor, contiene principios activos de la planta, preparado en tres concentraciones diferentes, al 5%, 10% 15%. (31)	Cuantitativa	Razón	Concentración del extracto (%)	Concentración al: 5% (50mg/ml) 10% (100mg/ml) 15% (150mg/ml)
Dependiente  Efecto antifúngico	Capacidad para detener la reproducción o reproducir la muerte de un agente bacteriano o fúngico en Condiciones Experimentales. <sup>(13)</sup>	Cualitativa	Nominal	Halos de Inhibición según Escala de Duraffourd (mm)	1.- Nula (-) para un diámetro inferior a 8 mm. 2..Bajo (entre 8 a 14 mm). 3. Medio (muy sensible ++) para un diámetro entre 14 a 20 mm. 4. Sumamente sensible (diámetro superior a 20 mm).

#### **4.5 Técnica e instrumentos**

##### **Técnica:**

Técnica experimental, se realizó la medición de los halos de inhibición generados, con la ayuda de elementos técnicos tales como instrumentos de recolección de datos”.

##### **Instrumento**

Ficha “de recolección de datos: sirvió para el registro de la información de necesaria para la investigación; su aplicación es de fácil uso. (Anexo 02)

Instrumentos utilizados:

- Estufa
- Placas petric
- Mechero
- Pipeta
- Molino
- Frascos ambar
- Rotavapor
- Vernier
- Bomba al vacío
- Papel Whatman N°1
- Filtros Millex 0,22 mm

### **Procedimiento:**

#### **1. Recolección de la muestra**

Se recolectó 1 Kg de hojas de *Annona muricata* del Jardín Botánico de la Universidad Nacional de Trujillo., del distrito de Trujillo, provincia Trujillo, Región La Libertad.

#### **2. Identificación y determinación taxonómica de la especie**

Un ejemplar completo de la planta se llevó al Herbarium Truxillense (HUT) de la Universidad Nacional de Trujillo para su identificación y determinación taxonómica.

(Anexo 3)

### **Preparación de la muestra vegetal**

Para este estudio se contó con la colaboración de Marilú Soto Vásquez docente encargada del laboratorio de farmacognosia quien me guio en el proceso de elaboración del extracto etanólico. (Anexo 4)

**Selección:** Se seleccionaron las hojas que estuvieron en buenas condiciones, que no tuvieron ataque de hongos, ni estuvieron marchitadas o decoloradas.

**Lavado:** Se procedió a lavar la muestra vegetal con agua destilada, seguido de una desinfección, utilizando hipoclorito de sodio al 0.5 %. Posteriormente se realizó un enjuague con agua destilada estéril, esto es para retirar los residuos de hipoclorito (31).

**Secado:** Las hojas fueron colocadas en papeles Kraft, y se llevaron a secar a una estufa de circulación de aire por convección forzada (40 °C) por 48 horas (31).

**Pulverización:** Las hojas una vez secadas fueron pulverizadas con ayuda de un molino.

**Tamizaje:** Luego las hojas pulverizadas, fueron tamizadas a través del tamiz N° 0.75.

**Almacenamiento:** El polvo de las hojas de *Annona muricata* se guardó en frascos de vidrio de color ámbar de boca ancha (31).

### **Preparación de los extractos etanólicos de las hojas *Annona muricata*.**

Se pesaron por separado 200 g de polvo de hojas se colocaron en sus respectivos recipientes de vidrio de boca ancha color ámbar. Se añadió etanol-agua (7:3) 2 litros. Se mezcló bien, teniendo en cuenta que la mezcla debe ocupar como máximo las  $\frac{3}{4}$  partes del recipiente. Se taparon los recipientes y se maceraron por 7 días, agitándose 15 minutos, dos veces al día. Transcurrido el tiempo de maceración, se filtró los macerados usando una bomba de vacío, con papel de filtro Whatman N° 1. Al líquido filtrado se le denominó extracto etanólico (31).

A continuación, cada extracto etanólico se concentró en un rotavapor hasta obtener una masa siruposa. Esta se llevó a secar

a la estufa a 40 °C. Al producto resultante se le denominó extracto seco. De estos, se prepararon las concentraciones de 5%(50mg/mL), 10%(100mg/mL) y 15%(150mg/mL) disueltas en etanol-agua (7:3). Finalmente, los extractos fueron filtrados con filtros Millex (Millipore) de 0,22 mm para esterilizar el extracto y fueron guardados en frascos de vidrio de color ámbar estéril y se guardaron en refrigeración a 4 °C (31,32).

### **Obtención de la cepa de *Candida albicans* ATCC 10231**

Para este estudio se utilizó la cepa de *Candida albicans* ATCC 10231 obtenida a través de la compra en GenLab del Perú S.A.C. (Anexo 6)

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

Se contó con la colaboración de Manuela Lujan Velásquez que me guio en el procedimiento de reactivación de la cepa de *Candida albicans* y enfrentamiento microbiológico. (Anexo 6)

Para este estudio se utilizó cultivo liofilizado de la cepa de *Candida albicans* ATCC 10231. La reactivación se realizó sembrando el cultivo liofilizado en balón de 50 mL con 25 mL de Caldo Brain Heart Infusion (BHI) o Cerebro Corazón Infusión, luego se incubaron a 37 °C por 48 horas en condiciones de microaerofilia y con el método de la vela (32).

Para evaluar pureza se sembró por estría en Agar TSYB e incubó a 37 °C por 48 horas en condiciones de microaerofilia. Posteriormente se eligió una colonia compatible con *Candida albicans* para realizar coloración gram (32).

A partir de una colonia se sembraron en caldo BHI y en Agar Tripticosa Soya (TSA), y se conservaron hasta su posterior empleo (32).

#### **4.- Medición del efecto antifúngico:**

Luego de sembrar la cepa de *Candida albicans* en las placas Petri se realizó la técnica de susceptibilidad utilizando el método de difusión de discos o método de kirby-bauer ,se prepararon discos de papel filtro estériles y se les sumergió dentro de las concentraciones del extracto etanólico de *Annona muricata* al 5% (50 mg/ml), 10% (100 mg/ml), 15% (150 mg/ml) después con una aguja estéril fueron colocados los discos sobre los cultivos de bacterias en las placas Petri preparadas previamente , se colocaron 4 discos por cada placa de agar posteriormente las placas de incubaron a 37 grados durante 24 horas . Finalmente, la lectura de los resultados se lleva a cabo a las 24 horas se miden los halos de inhibición incluyendo el área de los discos de papel filtro con una regla milimetrada. Las lecturas de los halos de inhibición se miden en milímetros teniendo en cuenta la escala de Duraffourd 20 16 (33).

### **A. Para medir efecto anti fúngico:**

Se colocó los discos de papel filtro Wattman impregnados con cada concentración y combinación preparada de los aceites esenciales, con la ayuda de una aguja estéril, las placas se mantuvieron en la misma posición por un periodo de 5 minutos luego de este tiempo las placas se voltearon de posición y se incubaron a 37 grados centígrados por 48 horas. Todo el procedimiento se llevó a cabo dentro del diámetro de 10cm de la llama de un mechero (33).

### **B. Lectura de las placas:**

Se realizó a las 48horas. Mediante la supervisión de cada placa. La actividad antifúngica fue determinada por la inhibición del halo inhibitorio alrededor de los discos, medida mediante una regla el cual nos determinó la cantidad en milímetros de diámetro del halo de inhibición

#### **a.- Preparación de los medios de cultivo**

El medio de cultivo Dextrosa Sabouraud se preparó siguiendo las instrucciones e ilustraciones de la casa fabricante, repartiéndose luego el medio en las 20 placas Petri, hasta llegar a un volumen aproximado de 5 mm por placa.

Posteriormente se dejó solidificar a temperatura del medio ambiente durante un corto, periodo de tiempo (15 minutos), inmediatamente las placas fueron rotuladas con la ayuda de un

marcador en la parte ulterior con el nombre correspondiente para identificar la placa.

Además, se añadió al proceso el control de esterilidad, dejando una preparación del agar sin el proceso de inoculación, incubando a 37°C por 24 horas.

#### **b.- Preparación del Inóculo**

Se realizó el ajuste de la turbidez del inóculo fúngico, con el estándar de la escala de Mc Farland. Se usó la suspensión estandarizada del agente micótico (*Cándida albicans*) a una concentración de  $1,5 \times 10^8$  UFC/ml, se procedió a tomar 100  $\mu$ de la suspensión bacteriana y con la ayuda de la micro pipeta se transfirieron a las placas Petri con contenido de agar Dextrosa Sabouraud (33).

#### 4.5 Plan de análisis

Se utilizaron tablas de resumen de una entrada, así como gráficos adecuados para presentar los resultados de la investigación.

Para comparar el efecto antifúngico entre las concentraciones del extracto etanólico de hoja de *Annona muricata* sobre *Candida albicans* ATCC 10231 se utilizó el análisis de varianza (ANOVA) para un diseño completamente al azar y luego se realizó la prueba de comparaciones múltiples de Turkey. Todas las pruebas estadísticas tuvieron un nivel de significancia del 5%.

Se contó con el apoyo de una hoja de cálculo de Microsoft Excel SPSS.

#### 4.6 Matriz de consistencia

TITULO	PROBLEMA	OBJETIVO	HIPOTESIS	TIPO DE ESTUDIO	POBLACION
EFFECTO ANTIFUNGICO IN VITRO DEL EXTRACTO ETANOLICO DE LAS HOJAS DE ANNONA MURICATA SOBRE CANDIDA ALBICANS	Existe efecto antifungico in vitro del extracto etanolico de las hojas de <i>Annona muricata</i> sobre <i>Candida albicans</i> ?	<p><b>Objetivo general</b></p> <p>Evaluar el efecto antifungico in vitro del extracto etanolico de las hojas de <i>Annona muricata</i> sobre <i>Candida albicans</i> ATCC 10231.</p> <p><b>Objetivos Especificos:</b></p> <p>Evaluar el efecto antifungico in vitro del extracto etanolico de las hojas de <i>Annona muricata</i> al 5 % sobre <i>Candida albicans</i>.</p> <p>- Evaluar el efecto antifungico in vitro del extracto etanolico de las hojas de <i>Annona muricata</i> al 10 % sobre <i>Candida albicans</i> ATCC 10231.</p> <p>- Evaluar el efecto antifungico in vitro del extracto etanolico de las</p>	<p><b>Hipótesis de investigación:</b></p> <p>• H<sub>i</sub>: Existe efecto antifungico in vitro del extracto etanolico de las hojas de <i>Annona muricata</i> sobre <i>Candida albicans</i> ATCC 10231.</p> <p><b>Hipótesis Estadísticas</b></p> <p>• H<sub>0</sub>: No existe efecto antifungico in vitro del extracto etanolico de las hojas de <i>Annona muricata</i> sobre <i>Candida albicans</i> ATCC 10231.</p> <p>• H<sub>A</sub>: Si existe efecto antifungico in vitro del</p>	<p>Tipo de investigación</p> <p>El presente trabajo de investigación es de tipo experimental, prospectivo, transversal y analítico.</p> <p><b>Nivel de investigación</b></p> <p>Es de nivel explicativo</p> <p><b>Diseño de la investigación</b></p> <p>El diseño del presente trabajo de investigación es experimento puro.</p>	<p><b>POBLACION:</b></p> <p>Placas Petri que contienen el microorganismo.</p> <p><b>MUESTRA:</b></p> <p>Conjunto formado por 10 repeticiones de placas Petri con las muestras de concentración al 5%, 10% y 15% seleccionadas de forma aleatoria</p>

ATCC 10231.		hojas de <i>Annona muricata</i> al 15 % sobre <i>Candida albicans</i> ATCC 10231.	extracto etanólico de las hojas de <i>Annona muricata</i> sobre <i>Candida albicans</i> ATCC 10231.		
----------------	--	---	---	--	--

#### **4.7 Principios éticos:**

Este estudio de investigación se fundamentó en el código de ética de la Universidad Católica Los Ángeles De Chimbote usando el principio de Cuidado del medio ambiente y la biodiversidad (34).

Los residuos microbiológicos fueron eliminados asegurándose su descontaminación en autoclave. Esto significa una bolsa primaria de color negro, llenada solo hasta  $\frac{3}{4}$  partes de su capacidad y anudada y sobre ésta una bolsa color amarillo con logo y pre impreso de residuos especiales, marcada con el tipo de residuos que contiene, el laboratorio o área de generación y la fecha. Estas bolsas cerradas anudadas, fueron almacenadas temporalmente en las áreas sucias en contenedores de color amarillo con logo de Residuo Biológico.

## V. Resultados

**TABLA 1:**

Efecto antifúngico in vitro del extracto etanólico de las hojas de *Annona muricata* sobre *Candida albicans*.

Concentración	n	N	Media	Desviación	Error	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo	p*
						Límite inferior	Límite superior			
5%	10	10	,0000	,00000	,00000	,0000	,0000	,00	,00	0.000
10%	10	10	10,3800	,67626	,21385	9,8962	10,8638	9,80	12,00	
15%	10	10	15,3100	,48178	,15235	14,9654	15,6546	14,80	16,10	
C+	10	10	24,2000	1,06145	,33566	23,4407	24,9593	22,00	25,40	
C-	10	10	6,6000	,51640	,16330	6,2306	6,9694	6,00	7,00	
Total	50	50	11,2980	8,26834	1,16932	8,9482	13,6478	,00	25,40	

p\*: prueba ANOVA

Fuente: Datos proporcionados por el investigador

Se comparó el efecto antifúngico in vitro del extracto etanólico de las hojas de *Annona muricata* a las concentraciones de 5%, 10%, 15%, C+, C-, frente a *Candida albicans*, se determinó una media de 0,0mm para la concentración 5%, una media de 10.13mm (actividad antifúngica bajo) a la concentración 10%, una media de 15,31mm (actividad antifúngica media), a la concentración 15%, así mismo una media de 24.20mm (sumamente sensible) al C+, una media 6,60mm al C- , Se utilizó la prueba ANOVA y se obtuvo p=0.000, lo cual indica que si existe diferencia estadística significativa entre las tres concentraciones y los controles.

**Tabla 2.** Comparación del efecto antifúngico in vitro del extracto etanólico de las hojas de *Annona muricata* en concentraciones 5%, 10%, 15% sobre *Candida albicans* ATCC 10231.

Comparaciones múltiples

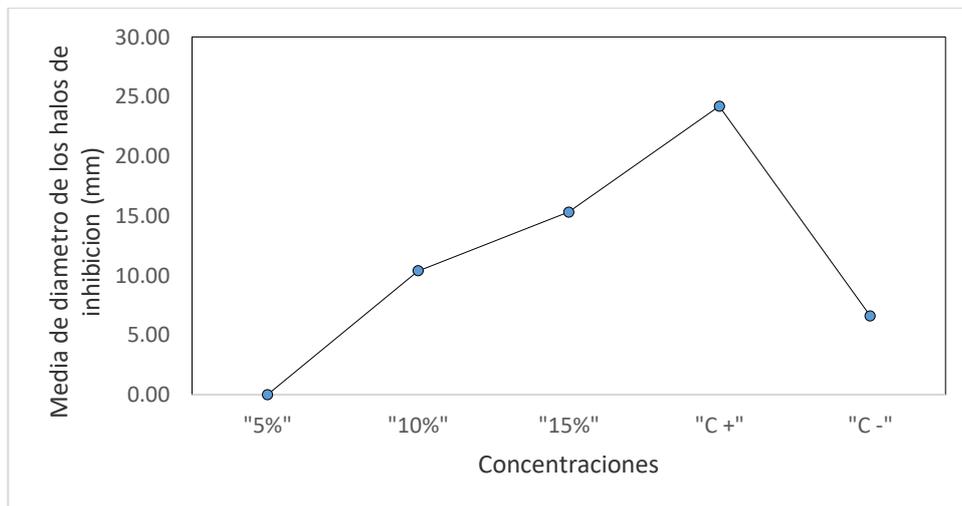
(I) extracto	(J) extracto	Diferencia de medias (I-J)	Desv. Error	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
5%	10%	-10,38000*	,28864	,000	-11,2001	-9,5599
	15%	-15,31000*	,28864	,000	-16,1301	-14,4899
	C+	-24,20000*	,28864	,000	-25,0201	-23,3799
	C-	-6,60000*	,28864	,000	-7,4201	-5,7799
10%	5%	10,38000*	,28864	,000	9,5599	11,2001
	15%	-4,93000*	,28864	,000	-5,7501	-4,1099
	C+	-13,82000*	,28864	,000	-14,6401	-12,9999
	C-	3,78000*	,28864	,000	2,9599	4,6001
15%	5%	15,31000*	,28864	,000	14,4899	16,1301
	10%	4,93000*	,28864	,000	4,1099	5,7501
	C+	-8,89000*	,28864	,000	-9,7101	-8,0699
	C-	8,71000*	,28864	,000	7,8899	9,5301
C+	5%	24,20000*	,28864	,000	23,3799	25,0201
	10%	13,82000*	,28864	,000	12,9999	14,6401
	15%	8,89000*	,28864	,000	8,0699	9,7101
	C-	17,60000*	,28864	,000	16,7799	18,4201
C-	5%	6,60000*	,28864	,000	5,7799	7,4201
	10%	-3,78000*	,28864	,000	-4,6001	-2,9599
	15%	-8,71000*	,28864	,000	-9,5301	-7,8899
	C+	-17,60000*	,28864	,000	-18,4201	-16,7799

Fuente: Datos proporcionados por el investigador.

Se puede apreciar en la prueba de Turkey que las tres concentraciones y los dos controles presentan nivel de significancia menor a 0.05, los cuales presentan una diferencia estadísticamente significativa.

### GRAFICO 1:

**Interpretación:** De todas las concentraciones el control + fue el que presento un mayor promedio en comparación con las demás concentraciones.



**Fuente:** Datos obtenidos de la tabla 2

En el gráfico 1 observamos que hay diferencia entre las concentraciones donde a medida que aumenta la concentración, aumenta el diámetro de halo de inhibición.

## 5.2 ANALISIS DE RESULTADOS

En el presente estudio se evaluó la actividad antifúngica del extracto etanólico a base *Annona muricata* frente a la cepa de *Candida albicans* en primera instancia se evaluaron de manera individual encontrando que tanto el extracto etanólico de *Annona muricata* 15% presentan mayor actividad antifúngica frente a la cepa *Candida Albicans*, estos resultados concuerdan con los hallazgos de **Huamán E. (Huancayo, 2018)** y **Wahyuningsih R. (Indonesia, 2019)** quienes a partir de su estudio lograron encontrar un efecto antifúngico de la planta de la misma especie frente a *Candida albicans* sin embargo existe diferencias de inhibición, por lo que debemos considerar factores como el método empleado para la realización del extracto, debido a que existen elemento como el tiempo de maceración, la dosis de etanol empleado, el peso en gramos considerados de las plantas para disolverlos en etanol. Otro punto a considerar es la técnica empleada para determinar el efecto antifúngico, como es el caso de Bento E, quien en su estudio utilizó la técnica de micro dilución en cultivos de caldos, lo cual también será representativo para encontrar los promedios de inhibición, considerando que al trabajar con discos se puede tener una medición exacta del halo de inhibición y en el caso de los cultivos en caldos se utiliza los grados de turbidez.

Los estudios de **Mithun B. (India, 2016)** , **Handayani P. (Indonesia, 2019)**, también presentaron resultados similares, ambos realizando un extracto de *Annona muricata* combinado con otras plantas. Estos extractos presentan flavonoides, saponinas y esteroides, los cuales tienen capacidad de causar filtración de proteínas y enzimas de las células bacterianas, además, de causar fugas de liposomas. 28

Hay resultados contradictorios con **Fisabilillah M. (Indonesia, 2019)** quien en su estudio obtuvo resultados diferentes en sus halos de inhibición con un efecto mínimo casi nulo, el cual puede deberse a las variaciones metodológicas y los materiales empleados, también puede deberse a diversos factores como la técnica de valoración, medio de crecimiento, microorganismos empleados y la composición química de los extractos. Esto también se debería al lugar donde se desarrolló la planta, como el suelo, clima, altura generando alteraciones en su composición.

El estudio de **Huamán E. (Huancayo, 2018)**, también presentó resultados contradictorios, indicando que el extracto de *Annona muricata* tuvo un efecto antibacteriano nulo sobre cepas de *Candida albicans* ya que no produjeron halos de inhibición, pese a que presentó concentraciones similares a nuestro estudio. Esto indica que el resultado pudo haber sido alterado debido a la metodología y material empleado. Existe diferencias entre las concentraciones del extracto etanólico de hoja de *Annona muricata* al 5%, 15% y 30%. Estos valores se prepararon con el propósito de obtener un efecto antibacteriano diferente por lo que cuando la concentración es superior se obtiene mayor efecto antibacteriano representado en diámetros de halos de inhibición. Esto se debe a las propiedades antibacterianas que contiene la hoja de *Annona muricata* la cual es mayor según el porcentaje utilizado en la preparación de los extractos.

## **VI. Conclusiones**

1. El extracto etanólico de hoja de *Annona muricata* presenta efecto antifúngico en las tres concentraciones frente a *Candida albicans*.
2. La concentración del extracto etanólico de hoja de *Annona muricata* al 15% presentó mayor efecto antifúngico que las otras dos concentraciones frente a *Candida albicans*.
3. La concentración del extracto etanólico de hoja de *Annona muricata* al 10% presentó efecto antifúngico frente a *Candida albicans*.
4. La concentración del extracto etanólico de hoja de *Annona muricata* al 5% no presentó efecto antifúngico frente a *Candida albicans*.

## **Aspectos complementarios**

- Recomiendo al director de escuela de farmacia y botánica que permita Realizar estudios para determinar la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y la Concentración Mínima Bactericida (CMB) para evaluar convenientemente el uso de los extractos etanólicos en la candidiasis.
- Impulsar a la realización de estudios de variadas plantas medicinales para el conocimiento de su acción sobre bacterias y distintas enfermedades como la candidiasis.

## Referencias bibliográficas

1. Alzamora L, Morales L, Armas L, Fernández G. Medicina tradicional en el Perú: actividad antimicrobiana in vitro de los aceites esenciales extraídos de algunas plantas aromáticas. *Anal Fac Med* (2016)62: 156-161. doi: 10.15381/anales.v62i2.4167. [Internet]. [Consultado 5 Septiembre 2018].  
[http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1609-91172017000400024](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172017000400024)
2. Barros F, Oliveira R, Alves F, Bezerra L, Martins J, Melo H. Activity of essential oils of *Piper aduncum* and *Cinnamomum zeylanicum* by evaluating osmotic and morphologic fragility of erythrocytes. *Eur J Integrative Med* 8: 505- 512. Doi (2016): 10.1016/j.eujim.2016.02.011 [Internet]. [Consultado 28 May 2019]. [Internet]. 2014 [Consultado 8 Septiembre 2018].  
[http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1609-91172017000400024](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172017000400024)
3. Borboa J, Rueda E, Acedo E, Ponce J, Cruz M, García J, Ortega M. Evaluación de la actividad antibacteriana in vitro de aceites esenciales contra *Clavibacter michiganensis* Subespecie *michiganensis*. *Trop Subtrop Agrosyst* (2010). 12: 539-547. [Internet]. [Consultado 28 Octubre 2018].

[http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1609-91172017000400024](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172017000400024)

4. Giannenas I, Skoufos J, Giannakopoulos C, Wiemann M, Gortzi O, Lalas S, Kyriazakis I. Effects of essential oils on milk production, milk composition, and rumen microbiota in Chios dairy ewes. *J Dairy Sci* (2011). 94: 5569-5577. doi: 10.3168/jds.2010-4096 [Internet]. [Consultado 8 Septiembre 2018]. <https://pdfs.semanticscholar.org/5d0a/e69045f50482c60d37c83326ca0f3db67fcc.pdf>
  
5. Gonzáles MV. Conservación de mora, uvilla y frutilla mediante la utilización del aceite esencial de canela (*Cinnamomum zeylanicum*). Ecuador: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia; 2010. [Internet]. [Consultado 10 Septiembre 2018]. <http://revistas.upagu.edu.pe/index.php/pr/article/view/483>
  
6. Romero M. Plantas aromáticas: Tratado de aromaterapia científica. Buenos Aires: Kier; 2004. [Internet]. [Consultado 28 Noviembre 2018]. [http://www.alimentosargentinos.gob.ar/contenido/sectores/aromaticas/publicaciones/Hiervas\\_2012\\_06Jun.pdf](http://www.alimentosargentinos.gob.ar/contenido/sectores/aromaticas/publicaciones/Hiervas_2012_06Jun.pdf)

7. Mgbeahuruike A., Hubert A., Joshua P., Nwoko I., Salawudeen M. Evaluation of the antimicrobial potential of *Annona Muricata* seed extracts on resistant bacterial and fungal pathogens of public health importance. *J Pharm Allied Sci* [Internet]. 8 de marzo de 2021 [citado 16 de abril de 2021];18(1):1-5. Disponible en: <https://www.ajol.info/index.php/jophas/article/view/204514>
8. León A, Martínez L, Zepeda L, Arteaga R, Gutiérrez P, Montalvo E. Efecto antibacterial, antifúngico, antioxidante y tóxico de extractos fraccionados de pulpa de Guanábana. *Rev bio ciencias* [Internet]. 2019 [citado 15 de abril de 2021];6(1):1-17. Disponible en: <http://www.scielo.org.mx/pdf/revbio/v6/2007-3380-revbio-6-e400.pdf>
9. Rustanti E, Fatmawati Z. Antimycotic activity of chloroform fraction of ethanol extract soursop leaves (*Annona muricata*, L.). *Medisa* [Internet]. 2019 [citado 15 de abril de 2021];1(2):37-44. Disponible en: <https://melysajournal.com/index.php/Melysa/article/view/24/15>
10. Wahyuningsih R, Wiryosoendjoyo K. Prueba de actividad antifúngica del extracto de infusión de hojas de sirsak contra *Candida albicans*. *J Med (Media Inf Kesehatan)* [Internet]. 30 de noviembre de 2019 [citado 15 de abril de 2021];6(2):167-76. Disponible en: <https://jurnal.poltekkesbanten.ac.id/Medikes/article/view/181>

11. Fisabilillah M. Efecto del extracto de hoja de Guanabana (*annona muricata*) contra la sepa de candida albicans [Internet]. [Indonesia]: Universidad de Yakarta; 2019 [citado 16 de abril de 2021]. Disponible en: <http://repository.umy.ac.id/handle/123456789/27956>
  
12. Handayani P. Investigación de extracto de hojas de sirsak (*annona muricata* l.) sobre el crecimiento de hongos candida albicans. J Ilm Mhs Vet [Internet]. 26 de febrero de 2019 [citado 16 de abril de 2021];3(2):42-7. Disponible en: <http://jim.unsyiah.ac.id/FKH/article/view/10770>
  
13. Mithun BH, Rajesh G, Shenoy R, Rao A. Anti-microbial efficacy of Soursop leaf extract (*Annona muricata*) on oral pathogens: An in-vitro study. J Clin Diagnostic Res [Internet]. 1 de noviembre de 2016 [citado 15 de abril de 2021];10(11):1-4. Disponible en: [/pmc/articles/PMC5198446/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3198446/)
  
14. Huamán E. Análisis de la actividad antimicrobiana del extracto etanólico de *annona muricata* frente a microorganismos patógenos - Huancayo 2017. [Internet]. [Huancayo]: Universidad Peruana de Los Andes; 2018 [citado 15 de abril de 2021]. Disponible en: [http://repositorio.upla.edu.pe/bitstream/handle/UPLA/731/TESIS\\_FINAL.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.upla.edu.pe/bitstream/handle/UPLA/731/TESIS_FINAL.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

15. Ruiz J. Determinación de la actividad antifúngica contra *Candida albicans* y *Aspergillus niger* de 10 plantas medicinales de 3 departamentos del Perú [Internet]. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. [Lima]: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2005 [citado 16 de abril de 2021]. Disponible en: <https://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/20.500.12672/1278>
  
16. Mamani G. Evaluación del efecto antifúngico del extracto hidroalcohólico de *Annona muricata* (Guanábana) por el método de difusión en placa sobre cepas de *Candida albicans* ATCC 10231 [Internet]. [Trujillo]: Universidad Alas Peruanas; 2015 [citado 15 de abril de 2021]. Disponible en: <http://civ.uap.edu.pe/cgi-bin/koha/opac-detail.pl?biblionumber=50326>
  
17. Cannonl. R, Chaffin. W, Oral colonization by *Candida albicans*. *Crit Rev Oral Biol Med.* 2014. 10 (3)-359-383. [Internet]. [Consultado 28 May2019].<https://journals.sagepub.com/doi/abs/10.1177/10454411990100030701>
  
18. Gordon R, Vande K, Brian L. Wickes, José L. Characteristics of biofilm formation by *Candida albicans*. *Rev Iberoam Micol* 2001; 18: 163-170 163. [Internet]. [Consultado 28 May 2019]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC128731/>

19. Mesa L M , Arcaya N , Cañas O, Machado Y, Clavo B. . Evaluación de los caracteres fenotípicos para diferenciar *Candida albicans* de *Candida dubliniensis*. *Rev Iberoam Micol* 2004; 21: 135-138 135. [Internet]. [Consultado 7 de Septiembre 2018]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3768677/>
20. Salvatori O, S. Puri S, S. Tati S, Edgerton M. Innate Immunity and Saliva in *Candida albicans*–mediated Oral Diseases. *Journal of Dental Research* 2016, Vol. 95(4) 365–371. [Internet]. [Consultado 7 de Septiembre 2018].
21. Davis D , Bryce W, Mitchell A. RIM101-Dependent and -Independent Pathways Govern Ph Responses in *Candida albicans*. *Molecular and cellular biology*, Feb. 2000, p. 971–978. [Internet]. [Consultado 7 de Septiembre 2018]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26747422>
22. Bonilla R, Moreno M, Muñoz H, Palma C. Adherencia in vitro de *Candida albicans* en tres diferentes acondicionadores de tejidos usados en prostodoncia total. *Revista Odontológica Mexicana* Vol. 16, Núm. 1 Enero-Marzo 2012 pp 40-45. [Internet]. [Consultado 7 de Septiembre 2018]. [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1870-199X2012000100006](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1870-199X2012000100006)
23. *Candida albicans*. Fichas de agentes biológicos. DB-H-C.a-12. [Internet]. [Consultado 7 de Septiembre 2018].

[https://www.mscbs.gob.es/ciudadanos/saludAmbLaboral/docs/agentes\\_biológicos.pdf](https://www.mscbs.gob.es/ciudadanos/saludAmbLaboral/docs/agentes_biológicos.pdf)

24. Jawetz, Melnick y Adelberg. Microbiología médica. 25ª edición. España: Editorial Mc Graw Hill – LANGE; 2010. [Internet]. [Consultado 7 de Septiembre 2018]. [http://www.helixbios.com/metagenomica?gclid=Cj0KCQjwpPHoBRC3ARIsALfx\\_IiScmr6h5j8MpFtpfLVJ4x1Ah6R6el8jRtEUTWyxOxSo6RkiPULhoaAn\\_xEALw\\_wB](http://www.helixbios.com/metagenomica?gclid=Cj0KCQjwpPHoBRC3ARIsALfx_IiScmr6h5j8MpFtpfLVJ4x1Ah6R6el8jRtEUTWyxOxSo6RkiPULhoaAn_xEALw_wB)
25. Alonso, J., Tratado de fitofármacos y nutraceuticos., Rosario - Argentina., Corpus., 2004., Pp. 641- 646, 927-930,1037-1041.
26. Baraona, M., y otros., Guanábana Y Macadamia Fluricultura Especial., Fluricultura II., San José - Costa Rica., EUNED., 1992., Pp. 17-21.
27. Bello, J., Calidad de vida, alimentos y salud humana: Fundamentos científicos., Madrid- España., Ediciones Días de Santos., 2005., Pp. 304-308.
28. Leon, J., Fundamentos Botánicos de Cultivos Tropicales., Lima – Perú ., Editorial IICA., 1968., Pp. 471-472
29. Efecto del ácido giberelico y agua a 4° c en la germinación de las semillas de guanaba (Annona muricata L.) [Internet]. 2012 [Consultado 22 May 2019]; 102(6).[http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/01/01\\_2168.pdf](http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/01/01_2168.pdf) 2005-05-01

30. Gil, A., Tratado de nutrición. Composición y calidad nutritiva de los alimentos., 2a ed., Tomo 2., Madrid- España., Editorial Médica Panamericana., 2010., Pp. 460-465; 483-490.
31. Miranda M. Métodos de Análisis de Drogas y Extractos. Instituto de Farmacia y Alimentos. Universidad Habana de Cuba; 2002.
32. Neviton R, Aparício D, Simone M, Vataru N, Prado B. An evaluation of antibacterial activities of *Psidium guajava* (L.) *Braz.arch.biol.technol.vol 48 N°3 Curitiba May 2005.*
33. Clinical Laboratory Standard Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty third Information Supplement. CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute); M100-S23. 2013; 33 (1).
34. Código de ética para la investigación. ULADECH.Versión 002 [Internet]. [citado 10 diciembre 2018]. Disponible en: <https://www.uladech.edu.pe/images/stories/universidad/documentos/2019/codigo-de-etica-para-la-investigacion-v002.pdf>
35. Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de Disco Difusión / Elaboración: Rosa Sacsquispe Contreras y Jorge Velásquez Pomar. -- Lima: Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud, 2012

Anexo 1:

**CARTA DE AUTORIZACION**

  
UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES  
CHIMBOTE  
FILIAL TRUJILLO

**CARRERA PROFESIONAL DE ODONTOLOGÍA**

Trujillo, 20 de septiembre del 2019

**DR: EDGAR DAVID ZAVALETA VALVERDE**

**LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO**

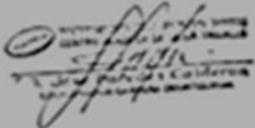
**Presente:**

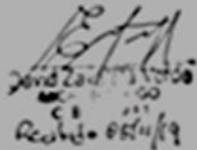
**De mi especial consideración:**

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 de cumplimiento curricular de la carrera profesional de odontología, en el curso de Taller de Investigación III, nuestra alumna, BARRETO GAVELAN, Mary Lina; debe de llevar a cabo el desarrollo de su proyecto de investigación titulado "EFECTO ANTIFÚNGICO IN VITRO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS HOJAS DE ANNONA MURICATA SOBRE CANDIDA ALBICANS ATCC 10231", así mismo para realizar el presente trabajo se solicita el permiso respectivo para que nuestra alumna pueda ejecutar con toda normalidad su proyecto de investigación 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**



  
David Zavala  
Recibido 08/10/19

## Anexo 2

### RECOLECCIÓN DE DATOS

extractos Concentración	Diámetro de los halos de inhibición según concentración del extracto etanólico de guanábana (mm)			C+ (mm)	C- (mm)
	5%	10%	15%		
<b>Repeticiones</b>					
<b>1.</b>					
<b>2.</b>					
<b>3.</b>					
<b>4.</b>					
<b>5.</b>					
<b>6.</b>					
<b>7.</b>					
<b>8.</b>					
<b>9.</b>					
<b>10.</b>					

**FUENTE:** Ruiz J. Determinación de la actividad antifúngica contra *Candida albicans* y *Aspergillus niger* de 10 plantas medicinales de 3 departamentos del Perú [Internet]. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. [Lima]: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2005 [citado 16 de abril de 2021].

### ANEXO 3

## CONTRASTACIÓN DE HIPÓTESIS

Luego de realizar la Prueba de Normalidad y corroborar que los datos se distribuyen de manera normal o simétrica, se aplicó la prueba estadística Paramétrica ANOVA.

#### 1.- Planteamiento de hipótesis:

- **Hi:** Existe efecto antifúngico in vitro del extracto etanólico de las hojas de *Annona muricata* sobre *Candida albicans* ATCC 10231.
- **H0:** No existe efecto antifúngico in vitro del extracto etanólico de las hojas de *Annona muricata* sobre *Candida albicans* ATCC 10231.
- **HA:** Si existe efecto antifúngico in vitro del extracto etanólico de las hojas de *Annona muricata* sobre *Candida albicans* ATCC 10231.

#### 2.- Nivel de confianza:

Nivel de confianza = **0.95 (95%)**

Nivel de significancia:  **$p = 0,05$  (5%)**

La significancia es el valor estándar y en base a ello se determinó si se acepta o se rechaza la hipótesis de investigación.

#### 3.- Establecimiento de criterios de decisión

La “prueba estadística se realiza en base a la hipótesis nula”.

- Si “el valor de significancia  **$p > 0,05$**  se acepta H0; se rechaza Hi.”
- Si “el valor de significancia  **$p < 0,05$**  se rechaza H0; se acepta Hi.”

#### 4.- Cálculos:

El software SPSS, proyecta los siguientes datos:

Tabla 1: “ANOVA: Efecto antifúngico in vitro del extracto etanólico de las hojas de *Annona muricata* sobre *Candida albicans*.”

Concentración	n	N	Media	Desviación	Error	95% del intervalo de confianza para la media			p*
						Límite inferior	Límite superior	Mínimo Máximo	
5%	10	10	,0000	,00000	,00000	,0000	,0000	,00 ,00	0.000
10%	10	10	10,3800	,67626	,21385	9,8962	10,8638	9,80 12,00	
15%	10	10	15,3100	,48178	,15235	14,9654	15,6546	14,80 16,10	
C+	10	10	24,2000	1,06145	,33566	23,4407	24,9593	22,00 25,40	
C-	10	10	6,6000	,51640	,16330	6,2306	6,9694	6,00 7,00	
Total	50	50	11,2980	8,26834	1,16932	8,9482	13,6478	,00 25,40	

p\*: prueba ANOVA

Fuente: Datos proporcionados por el investigador

Se comparó el efecto antifúngico in vitro del extracto etanólico de las hojas de *Annona muricata* a las concentraciones de 5%, 10%, 15%, C+, C-, frente a *Candida albicans*, se determinó una media de 0,0mm para la concentración 5%, una media de 10.13mm (actividad antifúngica bajo) a la concentración 10%, una media de 15,31mm (actividad antifúngica media), a la concentración 15%, así mismo una media de 24.20mm (sumamente sensible) al C+, una media 6,60mm al C- , Se utilizó la prueba ANOVA y se obtuvo p=0.000, lo cual indica que si existe diferencia estadística significativa entre las tres concentraciones y los controles.

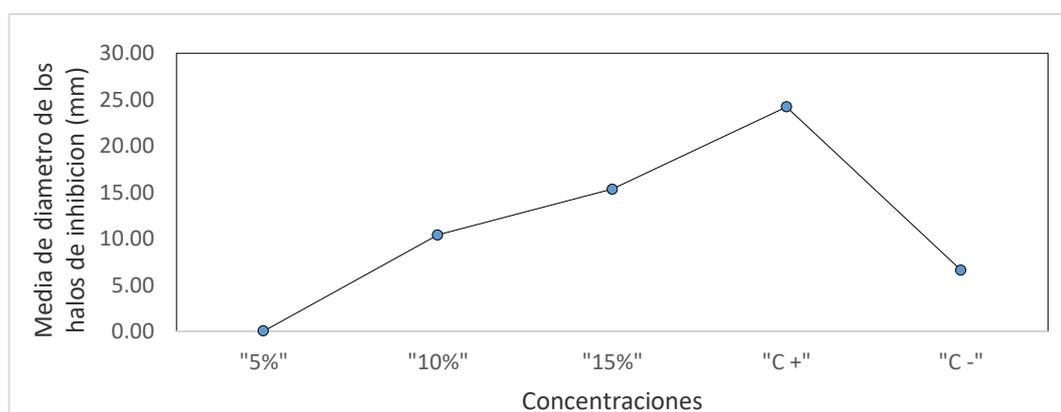
#### 5. Decisión:

La prueba “ANOVA, arroja una significancia  $p = 0,000 < 0,05$ ”.

Por lo tanto, se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alterna”.

- **H<sub>A</sub>**: Si existe efecto antifúngico in vitro del extracto etanólico de las hojas de *Annona muricata* sobre *Candida albicans* ATCC 10231.

**Grafico 1:** Comparación de las medias de halo de inhibición del efecto antifungico in vitro del extracto etanólico de las hojas de *Annona muricata* sobre *Candida albicans*."



**Fuente:** Datos obtenidos de la tabla 4

En el gráfico 1 observamos que hay diferencia entre las concentraciones donde a medida que aumenta la concentración, aumenta el diámetro de halo de inhibición.

## ANEXO 4:

### PRUEBA DE NORMALIDAD

El proceso de toma de decisiones para una prueba de hipótesis se basó en el valor de probabilidad (valor p) para la prueba específica.

Si el valor p es menor o igual a un nivel predeterminado de significancia ( $\alpha$ ), usted rechaza la hipótesis nula ( $H_0$ ) y da crédito a la alternativa ( $H_1$ ).

Si el valor p es mayor que el  $\alpha$ , no se rechaza la hipótesis nula ( $H_0$ ) y no se puede dar crédito a la hipótesis alterna ( $H_1$ ).

**Tabla 1:** Distribución de los valores obtenidos de los halos de inhibición de crecimiento (mm).

		Pruebas de normalidad <sup>c</sup>		
		Shapiro-wilk		
	concentraciones	Estadístico	gl	Sig.
Halos de inhibición	concentración al 5%	.	10	.
	concentración al 10%	,749	10	,053
	concentración al 15%	,861	10	,079
	control positivo	,900	10	,218
	control negativo	,640	10	,000

Los datos se encuentran distribuidos normalmente.

**Tabla 2.** Efecto antifúngico in vitro del extracto etanólico de las hojas de *Annona muricata* al 5%, 10% y al 15% sobre *Candida albicans*.

<b>Halos de inhibición</b>						
Duncan <sup>a</sup>						
concentraciones	N	Subconjunto para alfa = 0.05				
		1	2	3	4	5
concentración al 5%	10	,000				
control negativo	10		6,600			
concentración al 10%	10			10,380		
concentración al 15%	10				15,310	
control positivo	10					24,200
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Se comparó el efecto antifúngico in vitro del extracto etanólico de las hojas de *Annona muricata* a las concentraciones de 5%, 10%, 15% y también el C+, C-, frente a *Candida albicans*, se determinó que la concentración al 5% y el C- tuvieron un efecto nulo, la concentración al 10% tuvo una sensibilidad limite, el 15% tuvo un efecto medio y el C+ tuvo un efecto sumamente sensible.

## ANEXO 5:

### CONSTANCIA DE TAXONOMIA

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

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

- Clase: Magnoliopsida,
- Subclase: Annonoideae
- Orden: Magnoliales
- Familia: Annonaceae
- Género: Annona
- Especie: *A. muricata*,
- Nombre común: "guanábana"

Muestra alcanzada a este despacho por BARRETO GAVELAN MARY LINA, identificada con DNI: 73026796, con domicilio INT. A ASENT. H. CORAZON DE JESUS MZ 2 LT 2 – Laredo – Trujillo. Estudiante de la Facultad de ciencias de la Salud, de la Escuela Profesional de Odontología de la Universidad Católica los Ángeles de Chimbote (ULADECH), cuya determinación taxonomía servirá para la realización del taller de investigación. Efecto antifúngico del extracto etanólico, de las hojas de *Annona muricata* sobre *Candida albicans* ATCC 10231, Trujillo- 2019.

Se expide la presente constancia a solicitud de la parte interesada por los fines que hubiera lugar.



Dr. JOSÉ MOSTACERO LEÓN  
Director del Herbario HUT

## ANEXO 6:

Constancia de colaboración de **MARILÚ ROXANA SOTO VÁSQUEZ** Dra. En farmacia y bioquímica en la ejecución del proyecto de investigación

### CONSTANCIA

Yo, MARILÚ ROXANA SOTO VÁSQUEZ, Docente de la Cátedra de Farmacognosia del Departamento Académico de Farmacotécnica de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de Trujillo, con número de colegiatura 06952.

Dejo constancia de haber colaborado en la preparación de la muestra vegetal y las concentraciones, de los extractos etanólicos de hojas de *Annona muricata* (guanábana), en el laboratorio de farmacognosia de la facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de Trujillo de la alumna BARRETO GAVELAN MARYLINA, identificado con DNI 73026796, con domicilio legal en la INT. A ASENT. H. CORAZON DE JESUS MZ 2 LT 2, Laredo – Trujillo, estudiante de la Facultad de Ciencias de la Salud, Escuela Profesional de Odontología de la Universidad Católica los Ángeles de Chimbote, en la ejecución de la tesis titulada: EFECTO ANTIFÚNGICO IN VITRO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS HOJAS DE *ANNONA MURICATA* SOBRE *CANDIDA ALBICANS* ATCC 10231 - TRUJILLO, 2019.

Se expide esta constancia, a solicitud de la interesada, para los fines que estime pertinentes.

04 de octubre 2019



  
Dra. Marilú Roxana Soto Vásquez  
Docente de la Facultad de Farmacia y Bioquímica  
Cátedra de Farmacognosia  
Universidad Nacional de Trujillo

## ANEXO 7:

Constancia de colaboración de **MANUELA NATIVIDAD LUJAN VELÁSQUEZ**, Biólogo – Microbióloga en la ejecución del proyecto de investigación

### CONSTANCIA

Yo, **MANUELA NATIVIDAD LUJAN VELASQUEZ**, Bióloga-Microbióloga Docente de la Escuela de Microbiología y Parasitología, de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de Trujillo, con registro de CBP N-º 2132.

Mediante la presente dejo constancia de haber colaborado con la alumna **BARRETO GAVELAN MARY LINA**, identificado con DNI 73026796, con domicilio legal en la INT. A ASENT. H. CORAZON DE JESUS MZ 2 LT 2, Laredo – Trujillo, estudiante de la Facultad de Ciencias de la Salud, Escuela Profesional de Odontología de la Universidad Católica los Ángeles de Chimbote, en la ejecución de la tesis titulada **EFFECTO ANTIFÚNGICO IN VITRO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS HOJAS DE ANNONA MURICATA, SOBRE CANDIDA ALBICANS ATCC 10231 - TRUJILLO, 2019.**

Trujillo, 03 de Octubre del 2019



**Manuela Natividad Lujan Velásquez**

**Docente De La Escuela De Microbiología y Parasitología**

**Universidad Nacional De Trujillo**

-----  
Dra. Manuela Natividad Luján Velásquez  
CATEDRA DE INMUNOLOGÍA  
UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO

## ANEXO 8:

### Resultados

**Efecto antifúngico del extracto etanólico de la hoja de *Anona muricata* “guanabana” frente a *Candida albicans* ATCC 10231”, diámetro de los halos de inhibición del crecimiento (mm), método de Kirby Buer.**

extractos etanólicos de hoja de <i>Anona muricata</i> “guanabana”			Control +	Control -
5%	10%	15%		
0	10.1	15.1	22.0	7
0	11.1	15.3	23.9	7
0	10.0	15.2	24.5	7
0	10.5	16.1	25.0	6
0	09.8	15.8	24.5	6
0	10.0	15.0	25.1	6
0	10.0	14.9	24.8	7
0	12.0	14.8	25.4	7
0	10.1	14.9	23.9	7
0	10.2	16.0	22.9	6

**Control + = Nistatina 0.02%**

**Control - = Etanol 96°**

## ANEXO 9:

**VERNIER DIGITAL** marca MITUTOYO, Modelo 500-196-20 ABSOLUTE Digimatic Caliper 0-150mm / 0-6", por estar calibrado y validado con ISO de calidad 17025



**ANEXO 10:**

**Boletas de compra de la cepa *Candida albicans*.**



**GenLab**  
del Perú S.A.C

**Gen Lab del Perú S.A.C**  
 Jr. Capac Yupanqui N° 3434  
 Lima - Lima - Perú  
 Central Telefónica  
 (51-1) 253-7500, (51-1) 253-7501  
 Email: ventas@genlabperu.com  
 Web Site: www.genlabperu.com

**RUC N°: 20501262260**  
**FACTURA**  
**ELECTRONICA**  
**F002-000438**

Page 1 of 1

Fecha emisión : 15/08/2019      Orden Compra: COTIZ 18020749  
 Fecha Vcto : 15/08/2019      Guía de Remisión:  
 Cliente: UNIVERSIDAD CATOLICA LOS ANGELES DE CHIMBOTE      N° Pedido : 023118  
 Dirección: JR TUMBES NRO 247 CENTRO COMERCIAL Y FINANCIERO  
 CHIMBOTE - SANTA - ANCASH - Peru      RUC : 2018888043  
 Tipo Movimiento : ANTICIPOS  
 Lugar de destino :

Código	Descripción	Cant	UM	Precio Unit	Desc	Sub-Total
HC3818A	KWIK-STIK Candida albicans derived from ATCC# 10231	1	UND	349.98	0.00	349.98

CUATROCIENTOS DOCE CON 99188 SOLES



Anticipo		0.00
Op. Gravada	Si	349.98
IGV 18%		62.92
Importe Total	Si	412.90

Representación impresa de la Factura Electrónica  
 Consultar: <http://www.genlabperu.com>

**ANEXO 11;;**  
**PROCESAMIENTO DEL EXTRACTO ETANOLICO DE *Annona muricata***  
**REALIZADO EN LA FACULTAD DE FARMACIA DE LA UNT**

**SELECCIÓN, LAVADO Y DESINFECCIÓN**



Se lavaron las hojas de la Planta *Annona muricata* (GUANABANA) y se desinfectaron con Hipoclorito de Sodio al 0,5%

## SECADO



Secado a Temperatura Ambiente por 24 horas y en estufa a 40°C de Hojas de la Planta *Annona muricata* (Guanabana). Pulverización, Tamizaje y se pesó 300 gr. de *Annona muricata* (Guanabana).

## PREPARACIÓN DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICOS DE *Annona muricata*



Mezcla de Alcohol 96° con Agua Destilada (etanol al 96°) para *Annona muricata*  
Tiempo de maceración por 7 días y se agitará dos veces al día el frasco.



Se filtraron los macerados usando una bomba de vacío, con papel de filtro Whatman N° 1. Cada extracto etanólico se concentró en un rotavapor hasta obtener una masa siruposa. Esta se llevó a secar a la estufa a 40 °C. Al producto resultante se le denominó extracto seco. De estos, se prepararon las concentraciones de 5%(50mg/mL), 10%(100mg/mL) y 15%(150mg/mL)

## INOCULACION DE LAS PLACAS



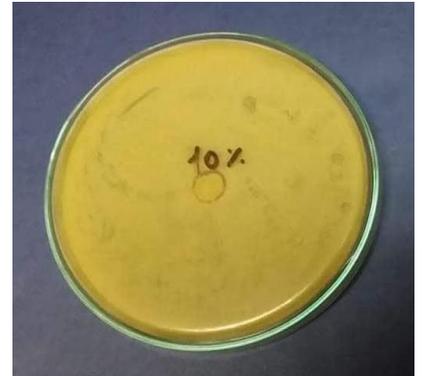
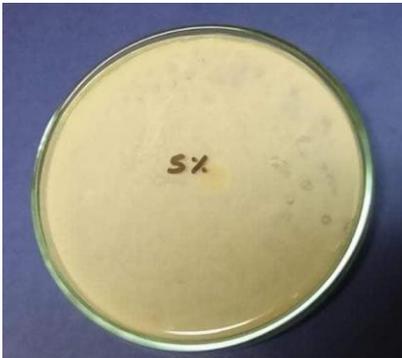
Hisopo estéril sumergido en la suspensión se distribuyó la suspensión bacteriana en tres direcciones para asegurar una distribución uniforme del inóculo de la placa.

Preparación de los discos de papel filtro whatman número 3 estériles, embebidos con 50 ul de cada una de las concentraciones de 5% ,10% y 15% del Extracto etanolico de *Annona muricata*

## LECTURA DE RESULTADOS

Se midieron los diámetros de los halos de Inhibición de *Annona muricata*

Placas Petri con halos de inhibición al 5, 10 y 15%



Placas Petri del control positivo Nistatina 0.02% y control negativo Etanol 96°

