

# UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA



## FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y BIOQUÍMICA

**ACTIVIDAD ANTIMICÓTICA *IN VITRO* DEL EXTRACTO ACUOSO DEL  
FRUTO DE *Passiflora tripartita* (Juss.) Poir. Var. *mollissima* (Kunth)  
Holm-Niels. & P. Jorg. (TUMBO) SOBRE CEPAS DE *Candida albicans* y  
*Candida tropicalis***

Tesis para optar al Título Profesional de Químico Farmacéutico y  
Bioquímico

### **TESISTAS:**

Bachiller Bok Yoonjung

Bachiller Egusquiza Saenz Emilia

### **ASESOR:**

Mg. Q.F. Pineda Perez, Neuman Mario

Lima – Perú

2019

## **DEDICATORIA**

Dedico principalmente a Dios, por ser el inspirador, bendiciéndome y el haber permitido llegar este día tan esperado.

A mis queridos padres por ser promotores de mi sueño, su sacrificio, paciencia, amor y apoyo incondicional que siempre confiaron y creyeron en mí.

A mis hermanos: Saejung y Kyunghoon por sus comprensiones y por estar acompañándome y apoyándome en cada momento cuando los necesitaba. A mis amigos, especialmente mi compañera y amiga Emilia por su confianza y presencia para luchar y lograr juntas apoyando mutuamente para nuestra formación profesional.

Bok Yoonjung

## **DEDICATORIA**

A mis pilares y motores de siempre: mis padres Egusquiza Pedrozo, Prono y Saenz Liñan, Felicia porque fueron los que confiaron en mí y me daban los ánimos y consejos para lograr esta meta, por el gran soporte incondicional.

A mis tres preciados y bendecidos hermanos: Wilmer, Edinson y Herlinda porque ustedes tuvieron mucha paciencia en esperar para compartir momentos en familia, muchas veces tuve que ausentarme para dedicarme a mis estudios y supieron comprender y confiaron en mí.

A mi esposo Anthony por apoyarme en mis traspasadas cuando tenía trabajos y/o exámenes, por su apoyo incondicional y siempre decirme “tu puedes, ya falta poco”.

Egusquiza Saenz Emilia

## **AGRADECIMIENTO**

En primer lugar, estamos muy agradecidas con Dios porque sin Él no habiéramos podido lograr este sueño que no fue tan fácil, pero con su misericordia pudimos vencer cada obstáculo.

A nuestra casa de estudios por abrirnos las puertas para poder formarnos como grandes profesionales de la carrera de Farmacia y Bioquímica.

A nuestros docentes por brindarnos todos sus conocimientos, enseñanza y consejos durante nuestra formación universitaria.

A nuestros compañeros por compartir experiencias, conocimientos y confianza por hacernos sentir como un segundo hogar.

A nuestro asesor Q.F. Pineda Neuman por su apoyo, dedicación y sugerencias para poder culminar en este estudio de investigación.

Bok Yoonjung y Egusquiza Saenz Emilia

## RESUMEN

Nuestro trabajo de investigación presentó por objetivo determinar si el extracto acuoso del fruto de *Passiflora tripartita* (Juss.) Poir. Var. *mollissima* (Kunth) Holm-Niels. & P. Jorg. (Tumbo) tiene actividad antimicótica sobre *Candida albicans* y *Candida tropicalis*. La muestra biológica fue obtenida en el distrito de Pomabamba, departamento de Ancash, en esta localidad se recolectó 6 kg de frutos maduros de los cuales se seleccionaron 3 kg que presentaron las características organolépticas deseadas para la investigación, de ellos se extrajo 250 mL de extracto acuoso con los cuales se preparó las concentraciones al 5, 15, 30, 70, 75, 80, 90 y 100 %. Se realizó la prueba de solubilidad encontrándose que fue soluble en agua, metanol y etanol. Los metabolitos encontrados fueron: Fenoles, Flavonoides, Antocianinas, Alcaloides, Naftoquinonas, Saponinas, Glicosidos, Cumarinas, Carbohidratos y Azúcares Reductores. Para la actividad antimicótica se utilizaron cepas de *Candida albicans* ATCC® 10231 y *Candida tropicalis* de ATCC 750. Los resultados de la actividad antimicótica mostraron que desde la concentración más baja a la con concentración más alta no presentaron actividad sobre las cepas estudiadas, por lo tanto la actividad del fruto de *Passiflora tripartita* (Juss.) Poir. Var. *mollissima* (Kunth) Holm-Niels. & P. Jorg. (Tumbo) en extracto acuoso fue nula. Pese a los resultados obtenidos, esta investigación es relevante puesto que es un estudio pionero sobre la actividad de la *Passiflora tripartita* en cepas micóticas y abren camino para futuras investigaciones en las cuales se descarta estos tipos de hongos y se usará nuevas especies patógenas que puedan ser sensibles a esta planta.

Palabras clave: *Passiflora tripartita*, actividad antimicótica.

## ABSTRACT

This investigation has as the main objective to determine whether the aqueous extract of the fruit of *Passiflora tripartite* (Juss.) Poir. Var. *mollisima* (Kunth) Holm-Niels. & P. Jorg. (Tumbo) presents antifungal activity on strains of *Candida albicans* and *Candida tropicalis*. The plant species was obtained in the district of Pomabamba, department of Ancash, in this town 6 kg of ripe fruits were collected, from which 3 kg were selected that presented the Organoleptic characteristics desired for the investigation, 250 mL of aqueous extract was extracted from them with which the concentrations at 5, 15, 30, 70, 75, 80, 90 and 100 % were prepared. The solubility test was performed, finding that it was soluble in water, methanol and ethanol. The metabolites found were: Phenols, Flavonoids, Anthocyanins, Alkaloids, Naphthoquinones, Saponins, Glycosides, Coumarins, Carbohydrates and Reducing Sugars. For the antifungal activity, strains of *Candida albicans* ATCC® 10231 and *Candida tropicalis* of ATCC 750 were used. The results of the antifungal activity showed that from the lowest concentration to the highest concentration there was no activity on the strains studied, therefore the activity of the fruit of *Passiflora tripartite* (Juss.) Poir. Var. *mollisima* (Kunth) Holm-Niels. & P. Jorg. (Tumbo) in aqueous extract was null. Despite the results obtained, this research is relevant since it is a pioneering study on the activity of *Passiflora tripartite* in fungal strains and paves the way for future research in which these types of fungi are discarded and new pathogenic species that can be used sensitive to this plant.

Keywords: *Passiflora tripartite*, antifungal activity.

## ÍNDICE

Carátula	
Dedicatoria	
Agradecimiento	
Resumen	
Abstract	
Índice	
Índice de tablas	
Índice de figuras	
Índice de anexos	
INTRODUCCIÓN	1
<b>CAPÍTULO I: PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN</b>	<b>3</b>
1.1. Descripción de la realidad problemática	3
1.2. Formulación del Problema	4
1.2.1. Problema general	4
1.2.2. Problemas específicos	4
1.3. Objetivos	5
1.3.1. Objetivo general	5
1.3.2. Objetivos específicos	5
1.4. Justificación	6
<b>CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO</b>	<b>7</b>
2.1. Antecedentes del estudio	7
2.1.1. Nacionales	7
2.1.2. Internacionales	9
2.2. Bases teóricas	10
2.2.1. Infecciones por Hongos	10
2.2.1.1. Micosis	10
2.2.1.2. Cepas	11
2.2.1.2.1. <i>Candida albicans</i>	11
2.2.1.2.2. <i>Candida tropicalis</i>	13
2.2.2. Planta Medicinal	15
2.2.2.1. <i>Passiflora tripartita</i> (Juss.) Poir. Var. <i>mollissima</i> (Kunth) Holm- Niels. & P. Jorg. (Tumbo)	15
2.2.3. Agentes Antimicóticos	21
2.2.4. Medicamento antimicótico	21

2.2.4.1. Clotrimazol	21
2.2.5. Extracto Acuoso	23
2.2.6. Prueba de susceptibilidad	23
2.2.6.1. Método de difusión en Agar	23
2.2.6.1.1. Método de difusión en Agar Cilindro – Placa	24
2.3. Hipótesis	25
2.3.1. Hipótesis general	25
2.3.2. Hipótesis específicas	25
2.4 Variables	26
2.4.1. Tabla de Operacionalización de Variables	26
2.4.2. Marco conceptual	27
<b>CAPÍTULO III: MÉTODO</b>	28
3.1. Tipo de estudio	28
3.2. Diseño de estudio	28
3.3. Población	28
3.4. Muestra	29
3.4.1. Técnicas e Instrumentos de recolección de la muestra	29
3.4.1.1. Preparación del extracto acuoso	29
3.4.1.2. Procedimiento de identificación	29
3.4.1.3. Preparación de extractos a diferentes concentraciones	30
3.4.1.4. Prueba de la actividad antimicótica	30
3.4.2. Delimitación de la muestra	31
3.5. Instrumentos	32
3.6 Análisis estadístico y Procesamiento de datos	34
<b>CAPÍTULO IV: PRESENTACION Y ANÁLISIS DE RESULTADOS</b>	35
4.1. Presentación de resultados	35
4.1.1 Prueba de solubilidad	35
4.1.2 Marcha fitoquímica	36
4.1.3 Actividad antimicótica	37
4.2. Contratación de hipótesis	39
4.3. Discusión de resultados	42
<b>CAPITULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES</b>	43
5.1. Conclusiones	43
5.2. Recomendaciones	43
REFERENCIAS	44



## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Prueba de solubilidad	35
Tabla 2 Marcha fitoquímica	36
Tabla 3 Primer ensayo de la actividad antimicótica del extracto acuoso del fruto de <i>Passiflora tripartita</i> Juss. (Tumbo) en <i>Candida albicans</i> .	37
Tabla 4 Primer ensayo de la actividad antimicótica del extracto acuoso del fruto de <i>Passiflora tripartita</i> Juss. (Tumbo) en <i>Candida tropicalis</i> .	37
Tabla 5 Segundo ensayo de la actividad antimicótica del extracto acuoso del fruto de <i>Passiflora tripartita</i> Juss. (Tumbo) en <i>Candida albicans</i> .	38
Tabla 6 Segundo ensayo de la actividad antimicótica del extracto acuoso del fruto de <i>Passiflora tripartita</i> Juss. (Tumbo) en <i>Candida tropicalis</i> .	38
Tabla 7 Tercer ensayo de la actividad antimicótica del extracto acuoso del fruto de <i>Passiflora tripartita</i> Juss. (Tumbo) en <i>Candida albicans</i> .	38
Tabla 8 Tercer ensayo de la actividad antimicótica del extracto acuoso del fruto de <i>Passiflora tripartita</i> Juss. (Tumbo) en <i>Candida tropicalis</i> .	38
Tabla 9 Ensayo de la actividad antimicótica del clotrimazol al 1 % crema en <i>Candida albicans</i> .	39
Tabla 10 Ensayo de la actividad antimicótica del clotrimazol al 1 % crema en <i>Candida tropicalis</i>	39
Tabla 11 Anova de un factor	41

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura N° 1 <i>Candida albicans</i>	13
Figura N° 2 <i>Candida tropicalis</i>	14
Figura N° 3 <i>Passiflora tripartita</i> Juss. (Tumbo)	16
Figura N° 4 Frutos de los ecotipos de <i>Passiflora tripartita</i> Juss. (Tumbo)	17
Figura N° 5 Distribución geográfica de la planta <i>Passiflora tripartita</i> Juss. (Tumbo) en el Perú	18
Figura N° 6 Estructura básica de compuestos fenólicos	19
Figura N°7 Estructura básica de flavonoides	20
Figura N° 8 Estructura química del clotrimazol	22
Figura N° 9 Método de difusión en agar cilindro placa	25
Figura N°10 Prueba de solubilidad	35
Figura N°11 Metabolitos secundarios	37

## **INDICE DE ANEXOS**

Anexo 1 Certificado botánico	49
Anexo 2 Recolección de Tumbo	50
Anexo 3 Selección, lavado y secado de Tumbo	51
Anexo 4 Obtención de la muestra	52
Anexo 5 Prueba de solubilidad	53
Anexo 6 Marcha fitoquímica	54
Anexo 7 Preparación de extractos a diferentes concentraciones	55
Anexo 8 Análisis microbiológico (Actividad antimicótica)	56
Anexo 9 Matriz de Consistencia	59

## INTRODUCCIÓN

El hombre ha reconocido en las plantas como componentes principales para producir Fitomedicamentos, en forma magistral o valiéndose de equipos y maquinaria sofisticada en forma industrial para tratar diversas patologías de origen infeccioso, controlar los problemas que presentan los microorganismos por su resistencia y los eventos o efectos indeseables que suelen presentar los microorganismos<sup>1</sup>.

En nuestro país existen unas 20 mil especies de plantas conocidas. Al utilizar aquellas plantas como una alternativa terapéutica en la medicina complementaria y alternativa ofrece variadas e importantes probabilidades para descubrir nuevos compuestos químicos<sup>2</sup>.

En las últimas décadas, luego de un tiempo donde la industria farmacéutica se centró básicamente en la elaboración de medicamentos de síntesis, dejando de lado las medicinas antiguas que empleaban varios tipos derivados de plantas medicinales, existen cambios cualitativos en diversos programas industriales enfocados en la búsqueda de nuevos fármacos de origen herbario<sup>2</sup>.

Actualmente, se vienen desarrollando investigaciones dirigidas al descubrimiento de nuevos componentes con acciones farmacológicas provenientes de origen natural para combatir hongos y bacterias resistentes y patógenas<sup>3</sup>.

Las micosis en general son infecciones que se producen por ciertos hongos microscópicos. El mayor tipo de afecciones evaluadas corresponden a lesiones superficiales las cuales pueden afectar en condiciones favorables la piel y la mucosa, pero también estructuras más duras como uñas y pelos. La literatura reporta que la forma de contagio es vía tópica, al tocar una persona u objeto con material contaminado. Cuando la lesión invade un huésped, provocar picazón aguada, otras veces se presenta como manchas blanquecinas que aumentan según el tiempo de exposición<sup>4</sup>.

En las últimas décadas, la micosis se ha incrementado frecuentemente, acompañadas de una alta mortalidad; causadas por especies del género *Cándida*, en un 20 a 50 porcientos de los casos<sup>5</sup>.

El propósito de investigar el extracto acuoso del fruto de *Passiflora tripartita* (Juss.) Poir. Var. *mollissima* (Kunth) Holm-Niels. & P. Jorg. (Tumbo) es que podremos usarlo en el tratamiento de las infecciones micóticas causadas por cepas de *cándida albicans* y *cándida tropicalis*.

Este estudio profundiza el conocimiento de esta especie vegetal, impulsando la investigación de sus propiedades medicinales. Así mismo, se convierte en una alternativa asequible para la población que no cuente con acceso de salud convencional y dependan de la medicina herbaria.

## **CAPÍTULO I: PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN**

### **1.1. Descripción de la realidad problemática**

En los últimos 20 años, principalmente, la aparición de afecciones dérmicas sobre todo del tipo micótico se ha incrementado, especialmente en individuos inmunodeprimidos según lo indica un estudio realizado por Warnock D. (2007)<sup>6</sup>, hoy las bacterias y los hongos tienen mayor capacidad de resistencia a los antibióticos y antimicóticos modernos (Itraconazole, Anfotericine B, Fluconazole, Voriconazole), los hongos que más resistencia han adquirido en los últimos años corresponden a la familia de las *cándidas* y *Aspergillus*, la resistencia de algunas especies de *Aspergillus* y *Cándida* convirtiéndose hoy en un álgido problema de salud.

Cuando el paciente presenta una complicación grave (SIDA, Hepatitis, Tuberculosis) una infección micótica puede volverse mortal al atacar sistema inmunitario debilitados, siendo la dermatomycosis un problema de población como consecuencia de un cuidado sanitario deficiente según lo reportado por López S. (2001)<sup>7</sup>.

La Organización Mundial de la Salud (OMS 2002) hizo un llamado a los países para controlar la resistencia antimicrobiana; promoviendo la investigación y desarrollo de nuevos agentes antimicrobianos. Navarro V., et al. (2003)<sup>8</sup>.

La necesidad de encontrar nuevas alternativas terapéuticas para combatir la micosis en los lugares más deprimidos económicamente es una tarea del Químico Farmacéutico por lo cual sus esfuerzos son necesarios para contribuir con el cuidado de la salud pública.

## 1.2. Formulación del problema

### 1.2.1. Problema general

¿El extracto acuoso del fruto de *Passiflora tripartita* (Juss.) Poir. Var. *mollissima* (Kunth) Holm-Niels. & P. Jorg. (Tumbo) presentará actividad antimicótica sobre cepas de *Candida albicans* y *Candida tropicalis*?

### 1.2.2. Problemas específicos

- 1 ¿El extracto acuoso del fruto de *Passiflora tripartita* (Juss.) Poir. Var. *mollissima* (Kunth) Holm-Niels. & P. Jorg. (Tumbo) tendrá metabolitos secundarios?
- 2 ¿Cuál será la concentración de extracto acuoso del fruto de *Passiflora tripartita* (Juss.) Poir. Var. *mollissima* (Kunth) Holm-Niels. & P. Jorg. (Tumbo) con mayor actividad antimicótica sobre cepas de *Candida albicans* y *Candida tropicalis*?
- 3 ¿La actividad antimicótica del extracto acuoso del fruto de *Passiflora tripartita* (Juss.) Poir. Var. *mollissima* (Kunth) Holm-Niels. & P. Jorg. (Tumbo) será mayor frente a Clotrimazol al 1 % sobre cepas de *Candida albicans* y *Candida tropicalis*?

### 1.3. Objetivos

#### 1.3.1. Objetivo general

Determinar si el extracto acuoso del fruto de *Passiflora tripartita* (Juss.) Poir. Var. *mollissima* (Kunth) Holm-Niels. & P. Jorg. (Tumbo) presenta actividad antimicótica sobre cepas de *Candida albicans* y *Candida tropicalis*

#### 1.3.2. Objetivos específicos

- 1 Identificar los metabolitos secundarios presentes en el extracto acuoso del fruto de *Passiflora tripartita* (Juss.) Poir. Var. *mollissima* (Kunth) Holm-Niels. & P. Jorg. (Tumbo).
- 2 Determinar la concentración de extracto acuoso del fruto de *Passiflora tripartita* (Juss.) Poir. Var. *mollissima* (Kunth) Holm-Niels. & P. Jorg. (Tumbo) que presenta mayor actividad antimicótica sobre cepas de *Candida albicans* y *Candida tropicalis*.
- 3 Comparar si el extracto acuoso del fruto de *Passiflora tripartita* (Juss.) Poir. Var. *mollissima* (Kunth) Holm-Niels. & P. Jorg. (Tumbo) presenta mayor actividad antimicótica frente a Clotrimazol al 1 % sobre cepas de *Candida albicans* y *Candida tropicalis*.



#### 1.4. Justificación

Nuestro país tiene una gran variedad de recursos vegetales con propiedades medicinales. En los últimos años el uso indiscriminado y desordenado de fármacos antimicóticos destinados a la farmacoterapia de infecciones nosocomiales, generó la resistencia de diversos tipos de hongos constituyendo un problema mundial de salud pública<sup>3</sup>. El mal uso de los antimicóticos trajo como consecuencia que la industria farmacéutica elabore cada vez fármacos más potentes y a la vez más tóxicos para combatir estos males.

La presente investigación se enfocó en estudiar la actividad antimicótica del extracto acuoso del fruto de *Passiflora tripartita* (Juss.) Poir. Var. *mollissima* (Kunth) Holm-Niels. & P. Jorg. (Tumbo) *in vitro* sobre cepas de *Candida albicans* y *Candida tropicalis*.

Las candidiasis o moniliasis son infecciones superficiales que atacan las zonas del intertrigo, afectan las uñas (paroniquia o perionixis) y a las mucosas (oral, genitourinaria o digestiva). Evidencia una sintomatología como: enrojecimiento, picazón cúmulo de secreción blanquecina espesa, sensación de quemazón, a veces inflamación y dolor. En sujetos trasplantados que padecen cáncer, que presentan SIDA, además de infecciones esta puede llegar a ser sistémica (candidemia) y en algunos casos se convierten en mortal.

El Químico Farmacéutico es el destinado a realizar el rol investigador con la finalidad de encontrar beneficios terapéuticos de las plantas y obtener propiedades medicinales debido a sus metabolitos, de tal manera que pueda guiar a las futuras generaciones para la búsqueda de recursos curativos.

En este sentido, la culminación de esta investigación proporcionará datos de la eficacia de la *Passiflora tripartita* (Juss.) Poir. Var. *mollissima* (Kunth) Holm-Niels. & P. Jorg. (Tumbo) como antimicótico, y así proponer el uso de la medicina tradicional para tratar pacientes infectados de estos agentes que aquejan a personas con bajos recursos ubicado en lugares alejados de los Servicios de Salud. De esta manera proponer alternativas terapéuticas innovadoras en el campo farmacológico.

## CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

### 2.1. Antecedentes del estudio

#### 2.1.1. Nacionales

**Churampi L., Montes E.<sup>9</sup> (2015)** realizaron un estudio para evaluar el comportamiento del extracto etanólico del fruto de *Passiflora mollissima* (kunth) l.h.bailey (Tumbo serrano) en procesos inflamatorios y proponer si se podría usar este compuesto como un activo en la industria cosmética. La metodología empleó la evaluación del proceso por la técnica del HET CAM el cual evaluó el potencial irritante *in vitro* sobre un modelo biológico alterno (Huevo de gallina fértil). Se evaluó un extracto al 20 % y al realizar la marcha fitoquímica se pudo evidenciar la presencia de compuestos fenólicos y flavónicos que según la literatura son responsables del efecto antioxidante antiinflamatorio y otras propiedades farmacológicas. La concentración del estudio estuvo ajustada a 500 y 1000 µg concentración recomendada para estas evaluaciones. Se observó ligero potencial irritante según las pruebas de seguridad *in vitro*. El resultado de la evaluación demostró que el extracto etanólico de *Passiflora mollissima* (Kunth) L.H.Bailey (Tumbo serrano) tienen acción desinflamante y se acuerdo al objetivo se pudo determinar que sería un buen activo para ser utilizado por la industria cosmética.

**Rodríguez C., Ríos M.<sup>10</sup> (2013)** Realizaron un estudio con el extracto acuoso liofilizado utilizando las hojas de *Clibadium surinamense* L. (Huaca) sobre cepas de *Trichophyton rubrum* ATCC 28188 y *Trichophyton mentagrophytes* ATCC 24953. Este estudio utilizó la metodología de la microdilución para los hongos filamentosos. La muestra fue secada en una cámara provista con deshumidificador a 40±2°C durante 72 horas; Después se realizó la molienda y se procedió por 3 horas a la cocción a 60°C y a su posterior liofilización. Luego se procedió para determinar las características farmacognósticas y el tamizaje fitoquímico de la muestra liofilizada. Se presentó alcaloides, flavonoides, saponinas y triterpenos-esteroides, se reportó que había pequeñas proporciones de principios amargos astringentes y glicósidos. Se pudo apreciar que la actividad a mayores concentraciones a 20 y 10 mg/l posee actividad antifúngica.

Finalmente se determinó la actividad antimicótica *in vitro* del extracto acuoso liofilizado de las hojas de *Clibadium surinamense* L. “huaca” sobre *Trichophyton mentagrophytes* y *Trichophyton rubrum*.

**Inocente M.<sup>11</sup>** (2014) Determinó la actividad antioxidante y fotoprotectora de una crema gel elaborada con extracto estabilizado *in vitro* sobre *Passiflora mollissima* HBK (Tumbo serrano). Se determinó parámetros de calidad fisicoquímica, microbiológica y seguridad (irritabilidad). Se determinó la presencia de compuestos fenólicos con actividad antioxidante y foto protectora con valor de  $111,657 \pm 2,823$  mg equivalente de ácido gálico / 100 mL y actividad antioxidante con valor de  $423,187 \pm 2,345$   $\mu$ mol Trolox/mL por el método de DPPH. Se determinó que la crema gel elaborada con extracto estabilizado de *Passiflora mollissima* HBK (Tumbo serrano) presenta actividad antioxidante.

**Montero D.<sup>12</sup>** (2015) **objetivo:** Determinó la actividad antioxidante *in vitro* entre compuestos bioactivos de nueve especies de *Passiflora*. Se consultaron varias obras literarias científicas donde se demuestra que las especies de *Passiflora* son fuente importante de antioxidantes naturales. La diversidad quimiotaxonómica presentó que solo algunas especies de *Passiflora* presentaron actividad antioxidante.

**Moreno C.<sup>13</sup>** (2015) Realizó la caracterización fotoquímica y cuantificación de fenoles y antocianos presentes del extracto foliares, radicales y florales de *Passiflora tripartita* Juss (Poire). Se realizó la marcha fitoquímica para metabolitos secundarios y los extractos fueron en agua y alcohol. Se encontró la presencia de quinonas, taninos, flavonoides, adicional a eso cumarinas, saponinas en los tres tejidos estudiados. Se encontraron esteroides y alcaloides en el extracto acuoso y etanólico, de las hojas. Se concluye que *Passiflora tripartita* Juss (Poire) presenta metabolitos secundarios.

**Anselmo R., Flores R.<sup>14</sup> (2018):** Realizaron un estudio con la finalidad de evaluar la actividad antifúngica del extracto etanólico de las hojas de la especie botánica conocida como *Lomanthus truxillensis* en cepas de *Cándida albicans* y *Aspergillus brasiliensis*. Se evaluaron las características fisicoquímicas del material vegetal seco. Se realizó la marcha fitoquímica. Se determinó la actividad antimicótica mediante técnica Kirby-Bauer. Las concentraciones utilizadas del extracto de *Lomanthus truxillensis* fueron distintas: 5 %, 15 %, 30 % y 75 %. Los metabolitos obtenidos fueron alcaloides, flavonoides, aminoácido, taninos, quinonas, glicósidos, saponinas, compuestos fenólicos, azúcares reductores y esteroides, el extracto etanólico vegetal presentó acción de disminuir las cepas de *Cándida albicans* y *Aspergillus brasiliensis*, al aplicar distintas concentraciones (5 %, 15 %, 30 % y 75 %), siendo de concentración mínima inhibitoria el 5 %. Se obtuvo una sensibilidad límite en concentraciones de 5 % y 15 % según los halos de inhibición. Mientras que a concentraciones de 30 % y 75 %, se logró obtener una sensibilidad mayor a *Cándida albicans* 22.01 mm de halo de inhibición y *Aspergillus brasiliensis* 9,96 mm (halo de inhibición).

### **2.1.2. Internacionales**

**Zucolotto<sup>15</sup> (2015)** Se realizó una investigación para identificar metabolitos secundarios de la especie de *Passiflora tripartita* var. de américa del sur. Para este estudio fue necesario utilizar la técnica de HPLC- DAD y HPLC-MS. Se encontró la presencia de flavonoides de C-glicósidos. Los flavonoides C-glicósidos con más frecuencia fueron orientina, isoorientina, vitexina e isovitexina.

**Simirgiotis<sup>16</sup> (2013)** Analizó los extractos metanólicos de cáscara y el zumo de fruta de *Passiflora tripartita*. El aislamiento se realizó por HSCCC y se caracterizó por HPLC-DAD-ESI/MS/MS. Al analizar los extractos metanólicos de la cascara y el zumo de fruta de *pasiflora tripartita*, se encontró actividad antioxidante, así como contenido de flavonoides y compuestos fenólicos. Los frutos mostraron mayor capacidad antioxidante  $12,89 \pm 0.02$  mg/mL en ensayo de DDPH. Los extractos metanólicos de la cascara y el zumo de fruta de *pasiflora tripartita*, presentaron una concentración de polifenoles totales de  $56.03 \pm 4.34$  mg de ácido gálico / 100g de peso seco).

## 2.2. Bases teóricas

### 2.2.1. Infecciones por Hongos

#### 2.2.1.1. Micosis

La micosis cutánea es generada por cierto tipo de hongos con su capacidad de invadir tejidos queratinizados (cabellos, uñas y piel) excepto tejidos más profundos. Se clasifican en: género *Trichopyton*, género *Microsporum* y género *Epidermophyton*. Solo forman hifas y arthroconidios en tejidos queratinizados no viables, si se realiza un cultivo los hongos desarrollan conidios característicos y colonias que es útil para dividirlos en especies. Los dermatofitos tienen una amplia diseminación mundial en su distribución, algunas especies tienen mayor frecuencia en distintas regiones que en otras, por ejemplo, *Trubrum* en los climas tropicales y *T.shoenleinii* en el mediterráneo <sup>17</sup>.

#### Clasificación de los dermatofitos

La clasificación de dermatofitos es:

- a) **Microsporum** Los macroconidios forman parte del conidio, el género *microsporum*, tiene la característica de ser grande, de paredes rugosas, fusiformes y multicelulares, formándose entre los extremos de las hifas, tienden a infectar habitualmente el cabello y la piel, pero muy rara vez las uñas<sup>17</sup>.
- b) **Epidermophyton floccosum** Este género monotípico sólo se forman macroconidios con 1 a 5 células, juntando colonias de color verdoso amarillento que rápidamente muta e invade las uñas y piel, pero nunca el cabello.
- c) ) **Trichophyton rubrum** Los macroconidios tienen forma de lápiz y una pared lisa con extremos romos. Los microconidios son considerados de tipo de espora predominantes. Cada especie varía conforme a la pigmentación y la morfología de la colonia. La formación de conidios puede variar también según la cepa bajo observación. Mucho influye el medio en el que se desarrollan para determinar sus características. La especie varía en su morfología de acuerdo al medio en que se desarrollan los hongos. El *T.rubrum* presenta hifas

enrolladas que por lo general tiene microconidios en forma de lágrimas a lado de las hifas y las colonias desarrollan un color rojo en el reverso<sup>17</sup>.

#### **2.2.1.2. Cepas**

##### **2.2.1.2.1. *Candida albicans***

Morfológicamente se trata de un hongo con características diploides reproducción asexual y de modo de vida oportunista (saprofito). Se le ubica entre la familia Sacaromicetos. Como hongo oportunista que es se encuentra ubicado en órganos externos como la boca, pero también ha colonizado intestinos y vagina. Este hongo tiene importancia clínica y bioquímica ya que también se usa en muchos procesos de fermentación<sup>17</sup>.

#### **Taxonomía**

Reino: Fungi

División: Ascomycota

Subdivisión: Saccharomycotina

Clase: Saccharomycetes

Orden: Saccharomycetales

Familia: Saccharomycetaceae

Género: *Candida*

Especie: *C. albicans*

#### **Forma:**

*Candida albicans* en su forma es una célula oval levaduriforme de 2 a 4 micras, gram positivas, posee una pared fina; cuando hay presencia de tejidos infectados su forma es filamentosas de longitud variable, con extremos redondos de 3 a 5 micras de diámetro y pseudohifas, son células alargadas de levadura que están unidas entre sí.

**Aspecto macroscópico de las colonias:**

*Cándida albicans* es un hongo dimórfico se desarrolla en diferente manera debido a la función de la temperatura de crecimiento que posee ya que, al ser una levadura, su temperatura es de 37°C en el huésped, y al ser un mohó, su temperatura en la naturaleza a 25°C. Pertenece al filo Ascomycota y su reproducción es asexual. Utilizan un mecanismo de defensa relacionados con la inmunidad celular del huésped y se le conoce como dimorfismo. Lo podemos encontrar en dos momentos, el primer momento como Saprófito, es cuando el hongo presenta forma de levadura se instala en el huésped y forma una especie de simbiosis sin causar síntomas, la otra forma es la filamentosa, esta es la forma más agresiva del hongo, su comportamiento es como parásito provoca síntomas en el huésped que requiere tratamiento inmediato. Se puede observar en el Agar Sabouraud que crece formando colonias blancas, blandas, cremosas y lisas<sup>18</sup>.

**Propiedades:**

Químicamente podemos identificar en la *Cándida albicans* la presencia de compuestos proteicos en un rango de 20 a 30 %, también complejos lipoides en su membrana externa e interna polisacáridos en un 50 %. Estos compuestos primarios en el hongo van a variar de acuerdo a las condiciones a las que está expuesta el microorganismo (edad, fuente de alimentación, antimicóticos, etc.) presenta una pared celular compacta y esta es debida a la presencia de muchos polisacáridos en los cuales destacan: Quitina, Glucano, Manano entre otros. La rigidez de la pared celular está en función a factores dinámicos en el hongo e influenciado por procesos metabólicos.

**Reservorio:**

El reservorio es en los seres humanos (pueden estar presentes principalmente la cavidad oral por las condiciones naturales que le ofrece para su crecimiento y desarrollo, asimismo los órganos genitales y urinarios por la condición de temperatura constante existente, microclima favorable para el crecimiento y desarrollo, asimismo en el tracto gastrointestinal.

**Supervivencia ambiental:**

Al estar fuera del huésped pueden vivir en zonas húmedas y también en zonas de poca luz.

**Mecanismo de propagación y transmisión:**

Tenemos en cuanto a su mecanismo de propagación y transmisión puede ser por transmisión endógenas que puede ser causada por el contacto a través de la piel, también se pueden encontrar en las mucosas o en algunos casos las mordeduras. Siendo responsable de la enfermedad nosocomial.

**Antimicrobianos:**

Anfotericina B, ketoconazol, fluconazol, nistatina y clotrimazol<sup>19</sup>.

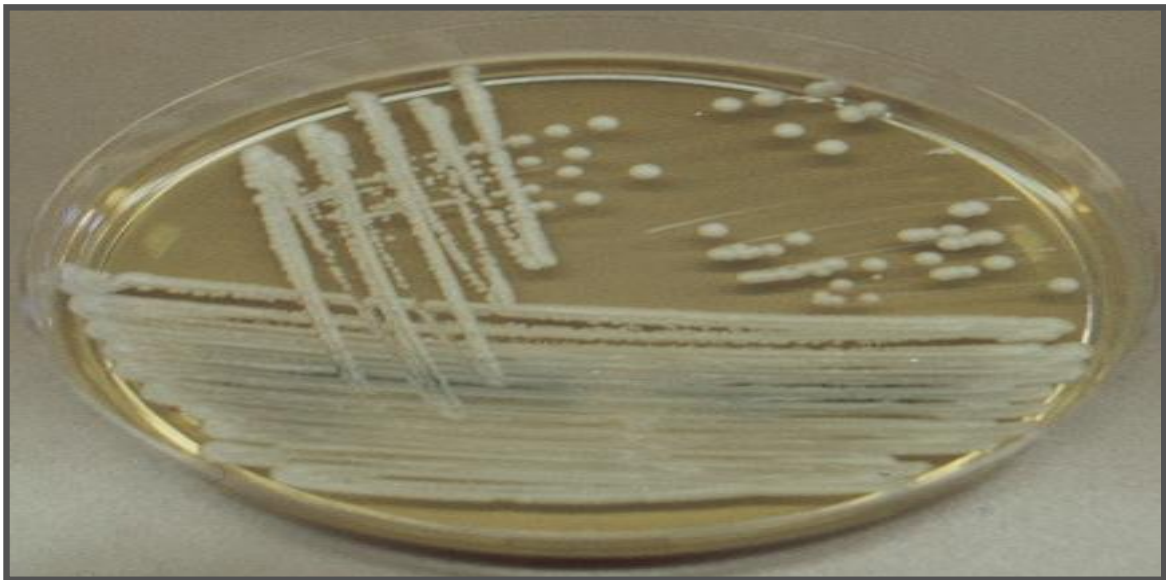


Figura N° 1 *Candida albicans*<sup>33</sup>

**2.2.1.2.2. *Candida tropicalis***

Es una levadura que se presenta sobre todo en países tropicales que puede causar enfermedad (candidiasis) en el humano, particularmente virulenta en pacientes inmunodeprimidos. A total de infecciones producidas por levaduras del género *Cándida*, en caso de la infección por *Candida tropicalis* particularmente es menos más infrecuente, ya que se origina un aproximado de 15 % de ellos, sin embargo, su prevalencia tiene a incrementar en todo el mundo, puede ser resistente a algunos medicamentos usados constantemente en el tratamiento de la candidiasis.



## Taxonomía

Reino: Fungi

División: Ascomycota

Subfilo: Saccharomycotina

Clase: Saccharomycetes

Orden: Saccharomycetales

Familia: Saccharomycetaceae

Género: Candida

Especie: *C. tropicalis*<sup>20</sup>

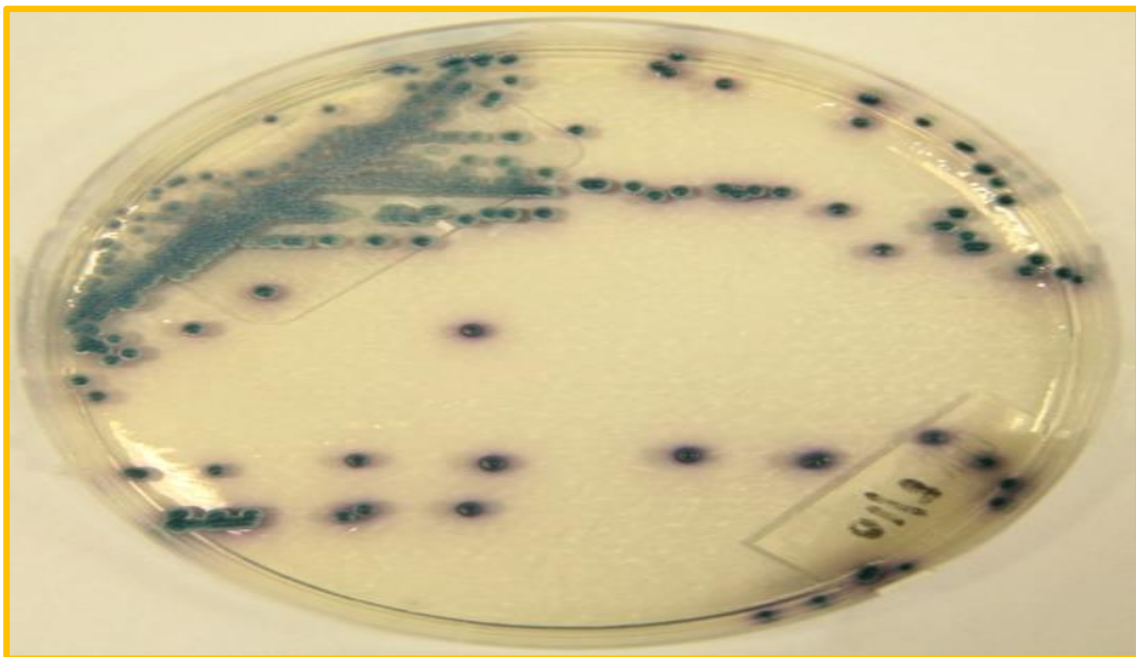


Figura N° 2 *Candida tropicalis*<sup>34</sup>

## 2.2.2. Planta Medicinal

### 2.2.2.1. *Passiflora tripartita* (Juss.) Poir. Var. *mollissima* (Kunth) Holm-Niels. & P. Jorg. (Tumbo)

Desde la antigüedad el tumbo es conocido por el poblador andino, las culturas pre incas ya reportaban en sus huacos la presencia de este fruto y el inca utilizaba el tumbo como forma de acidificar sus alimentos en reemplazo del aun no conocido limón. Por la expansión del imperio de los incas el tumbo fue conocido en los países de Bolivia, Ecuador, Venezuela, generalmente en las regiones andinas frías de estos países. Se reconoce con el nombre de: tumbo serrano, curuba de castilla, poro poro, purocksha, tacso.

El Perú le ofrece una condición favorable de tierra y clima en toda la región andina, lo podemos encontrar entre 1800 a 3300 m.s.n.m de preferencia en los departamentos de Huancavelica, Junín, Ancash, Moquegua. Es una planta que hasta ahora no tiene un cultivo tecnificado, crece de manera silvestre en los jardines y chacras de los lugareños, necesita de un clima húmedo y seco (18°C a 24°C) formando cercos vivos de protección en heladas<sup>21</sup>.

En los jardines se le observa como una planta trepadora, usa a los otros árboles o arbustos para colonizar espacios, presenta tallo cilíndrico pubescente, pueden llegar a medir de 7 a 12 metros y hojas obovadas, trilobuladas y bordes aserrados en sus márgenes, generalmente con vellosidades pubescentes en ambas caras. Flores de pétalos rosado a rojo; presenta brácteas cilíndricas verde pubescente con tres lóbulos muy largos que llegan a medir de 6 a 10 cm. Corola formada por una fila de papilas diminutas.

Fruto baya oblonga u ovoide, al madurar amarillo, blanco o rojizo, de acuerdo a la variedad; dimensiones variables de 6 a 20 cm de largo, de 3 a 7 cm de diámetro y peso promedio 90 g. La pulpa formada por semillas envueltas en arilos con jugo aromático color salmón-anaranjado o rojizo; particularmente rico en niacina (3,05 mg en 100 g), alto contenido en pectinas y sabor muy agradable y agridulce, con pH que varía de 3.5 a 4.5 según la variedad.

Semillas ovaladas y aplanadas, rodeadas de un arilo anaranjado succulento y comestible, marrón oscuras con puntitos amarillos dispuestos en dos hileras.

## Taxonomía

REINO: Plantae

DIVISIÓN: Magnoliophyta

CLASE: Magnoliopsida

SUBCLASE: Dilleniidae

ORDEN: Violales

FAMILIA: Passifloraceae

GÉNERO: Passiflora

ESPECIE: *Passiflora tripartita* (Juss.) Poir. Var.

*mollisima* (Kunth) Holm-Niels. & P. Jorg.<sup>2</sup>



Figura N° 3 *Passiflora tripartita* Juss. (Tumbo)<sup>35</sup>

### Propiedades farmacológicas.

Los estudios realizados para conocer las propiedades farmacológicas del *Passiflora tripartita* (Juss.) Poir. Var. *mollissima* (Kunth) Holm-Niels. & P. Jorg. (Tumbo) han demostrado que:

Con el extracto etanólico de *Passiflora tripartita* Juss. (Tumbo) se puede evaluar muchas propiedades farmacológicas en las cuales se destaca la analgésica, antiinflamatoria y antihipertensiva.

Con el extracto en acetona del fruto de *Passiflora tripartita* Juss. (Tumbo) se puede evaluar un efecto antimicrobiano, antidiabético y antioxidante.

Con el extracto acuoso liofilizado obtenido de hojas de *Passiflora tripartita* (Juss.) (Tumbo) se puede evaluar actividad antiinflamatoria.

Otras evaluaciones realizadas con el fruto de *Passiflora tripartita* (Juss.) (Tumbo) han demostrado que tiene elevado efecto antioxidante y reductora comparando con otros frutos tropicales, también han demostrado que la actividad antioxidante está relacionada con la presencia de compuestos fenólicos, principalmente los flavonoides<sup>23</sup>.

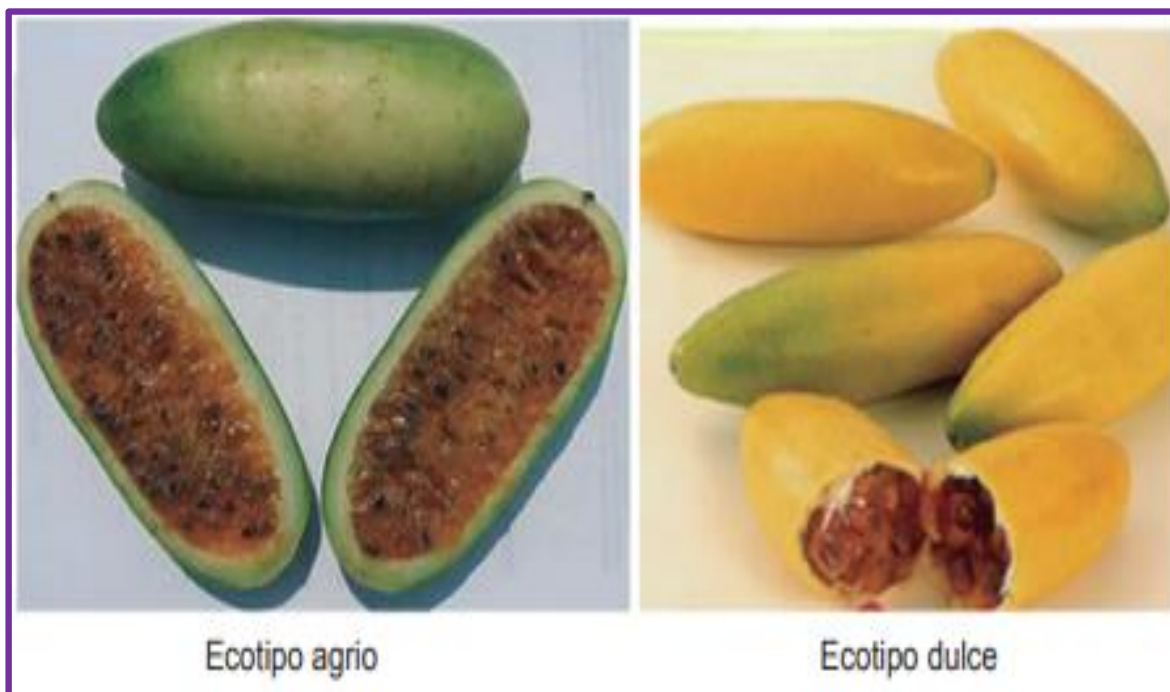


Figura N° 4 Frutos de los ecotipos de *Passiflora tripartita* Juss. (Tumbo)<sup>36</sup>

## Distribución geográfica

El desarrollo de esta planta milenaria utilizada en el imperio incaico y que solo era consumida por el Inca, de desarrollo a 1,000 a 3,500 m.s.n.m. de preferencia en la sierra. Ancash, Junín, Moquegua, Huancavelica, presentando en algunas regiones mayor concentración de metabolitos secundarios. Esta planta necesita clima húmedas y secas, de preferencia en valles interandinos. Temperas entre 18° a 24°C, cultivándose generalmente bajo lluvia. Es una planta versátil, se adecua a distintos tipos de suelos, en valles agrícolas de la sierra<sup>24</sup>.



Figura N° 5 Distribución geográfica de la planta *Passiflora tripartita* Juss. (Tumbo) en el Perú<sup>37</sup>

## Metabolitos secundarios

a. **Compuestos Fenólicos.** Es el grupo que está constituido en su composición química por un anillo aromático, y los demás están unidos a los grupos hidroxilos, podemos encontrar en otros derivados funcionales tales como los ésteres, glúcidos, etc.

Estos metabolitos secundarios como los compuestos fenólicos vienen de la ruta del ácido shikímico o ruta del acetato.

1. La ruta del ácido shikímico como los fenoles, ácidos fenólicos (benzoicos, cinámicos, etc.), cumarinas, lignanos, flavonoides, taninos.

2. La ruta de los acetatos o también conocida como la ruta del ácido mevalónico, tenemos los siguientes derivados fenólicos: antraquinonas y heterósidos antracénicos<sup>25</sup>.

Se estudian compuestos fenólicos por sus propiedades sobre procesos fisiológicos como cicatrizantes y en la recuperación del epitelio dañado evitando las posibles complicaciones dérmicas y necrosis de la piel. Favorece la migración leucocitaria acelerando los procesos de cicatrización por la formación de fibroblastos responsables de regenerar el tejido dañado, así como de evaluar las infecciones.

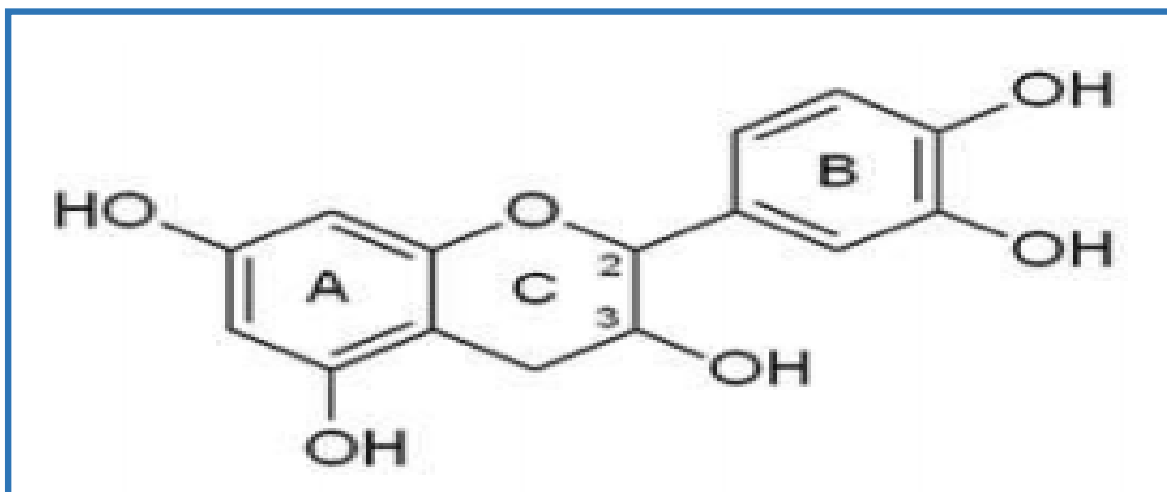


Figura N° 6 Estructura básica de compuestos fenólicos<sup>38</sup>

b. **Flavonoides.** Los flavonoides son compuestos que poseen bajo peso molecular que están constituido por 15 carbonos, por dos anillos de fenilos (A y B) que están ligados por un anillo (C) de pirano. Entre los átomos de carbono en los anillos C y A estos se enumeran de 2 al 8 y en los anillos B se enumeran del 2 al 6.

Flavonoides, estructura básica y tipos:

- 1) Flavonas: Como la diosmetina, esta posee un grupo carbonilo que se encuentra en la posición del carbono 4 del anillo C y además está ausente en el grupo hidróxilo en posición del carbono 3<sup>26</sup>.
- 2) Flavonoles: Estos están compuestos por la quercitina tiene un grupo carbonilo en la posición 4 y también la presencia de un grupo OH en la posición 3 del anillo C.
- 3) Flavanos: Como la catequina, se encuentra un grupo OH en posición 3 del anillo C.
- 4) Antocianidinas: Estas están unidas por el grupo OH en la posición 3<sup>26</sup>.

Los flavonoides tienen grandes actividades farmacológicas tales como: antioxidantes, antiinflamatorias, antialérgicas, antibióticas, antidiarreicas y contra el cáncer. En modelos "in vivo" no se ha podido demostrar la actividad antioxidante, así como no se han podido relacionar directamente con la efectividad contra el cáncer. Algunos estudios parecen indicar que una dieta rica en flavonoides puede disminuir el riesgo de cáncer, pero no se ha encontrado significación estadística.

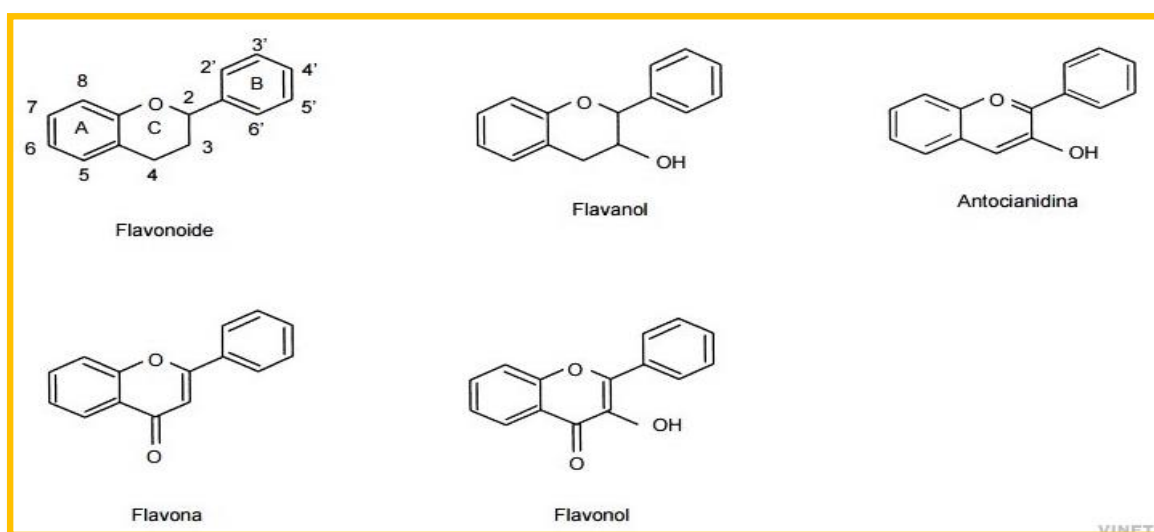


Figura N°7 Estructura básica de Flavonoides<sup>39</sup>

### 2.2.3. Agentes Antimicóticos

Antifúngico o antimicótico es toda sustancia impide el crecimiento de ciertos tipos de hongos e incluso de causar su muerte. Los antifúngicos son sumamente importantes para tratar muchas enfermedades <sup>27</sup>.

- Compuestos con núcleo derivados de los Polienicos: entre ellos tenemos a la Anfotericina B, Natamicina, Nistatina.
- Compuestos con núcleos derivados de los Azoles entre ellos tenemos al: clotrimazol, ketoconazol. Imidazol: miconazol.
- Derivados de los Triazoles: fluconazol, itraconazol (ketoconazol) y triazoles de segunda generación: voriconazol, ravuconazol, posaconazol
- Compuestos con núcleos derivados de las Alilaminas: entre ellos tenemos la Naftifina Terbinafina.
- Compuestos derivados de los núcleos Lipopéptidos: Papulacandinas, Triterpenos glicosilados. Equinocandinas: caspofungina, anidulofungina, micafungina.
- Compuestos derivados del núcleo de las Pirimidinas, entre ellas tenemos Flucitosina.
- Otros: Ioduro de potasio, ciclopirox, tolnaftato, griseofulvina

### 2.2.4. Medicamento antimicótico

#### 2.2.4.1. Clotrimazol

Es un compuesto antimicótico perteneciente al grupo Imidazólico, de aplicación tópica con enérgica actividad sobre dermatofitos, levaduras, *M. Furfur* y *Cándida*. Por su espectro de acción, puede emplearse también con buenos resultados sobre *Trichomonas vaginalis*, microorganismos Gram positivos y microorganismos Gram negativos<sup>27</sup>.

#### **Mecanismo de acción:**

El mecanismo reconocido de este grupo de fármacos es la inhibición de la síntesis de la membrana de ergosterol necesaria para la estabilidad del hongo. Al administrar estos compuestos van a provocar una desorganización en la membrana haciéndola más permeable provocando la destrucción de sus órganos internos (lisis). Es un antifúngico de amplio espectro, con actividad *in*



*vitro* e *in vivo*, frente a dermatofitos, levadura y mohos. En condiciones de estudio adecuadas, los valores de la concentración mínima inhibitoria (CMI) para estas especies de hongos están entre 0,062 y -8 µg/mL de sustrato. *In vitro*, clotrimazol ha demostrado ser fungistático o fungicida dependiendo de la concentración. Actúa como fungistático a concentraciones iguales a las CMI, y como fungicida cuando estas concentraciones son aproximadamente 5 veces las CMI.

### Uso Clínico:

La principal forma de administración es la vía tópica, para la cual la industria farmacéutica ha elaborado una serie de formulaciones con la finalidad de abarcar todo el campo de acción, así pues, tenemos soluciones cremas óvulos y polvos a diferentes concentraciones. A veces las personas pueden ser afectadas en la piel y en las mucosas por lo tanto deben utilizar tratamientos combinados con los distintos activos antimicóticos antes mencionados para facilitar la erradicación de este agente patógeno. La dosis es la siguiente, aplicar 2-3 veces al día, manteniendo el frasco pulverizador en posición vertical a unos 10- 30 cm de la zona a tratar. Crema: aplicar en la zona afectada mediante fricción 2-3 veces al día hasta su completa absorción. Polvo: aplicar 2 veces al día sobre las superficies correspondientes. La duración del tratamiento depende de la localización y extensión del proceso. En general se aconseja de 3 a 4 semanas <sup>27</sup>.

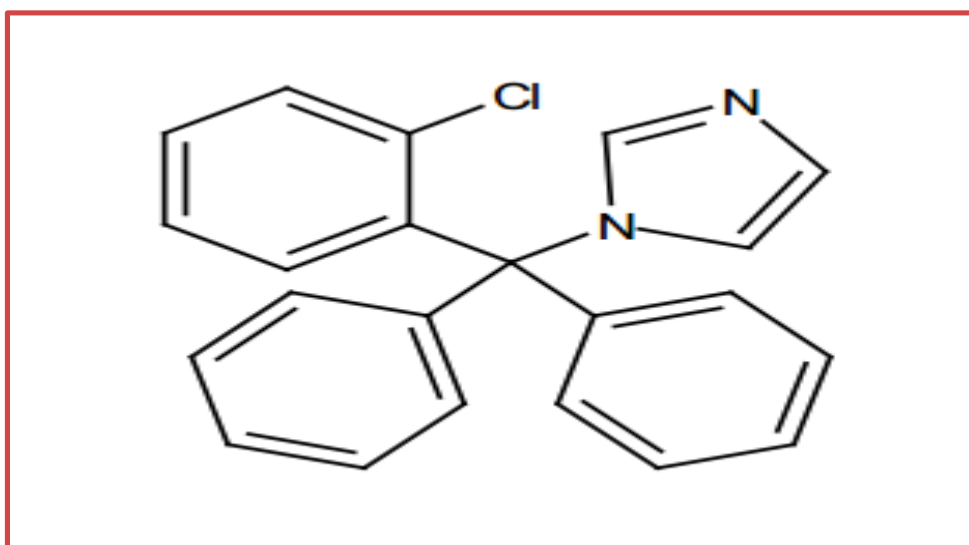


Figura N° 8 Estructura química del clotrimazol<sup>40</sup>

### **2.2.5. Extracto Acuoso**

Son líquidos donde agua es su solvente. Presentan color y aroma más ligeros y no se sedimenta, por dicha razón y ser menos concentrados que hidroalcohólicos, son muy empleados para productos cosméticos, alimenticios y otros.

#### **Preparación:**

El extracto acuoso es una forma de preparar el producto para ser analizado, se aconseja la utilización de agua ultra pura, pero también puede usarse agua destilada. La finalidad es lograr un poder extractivo con este solvente. El material vegetal a utilizar puede ser un mismo lote o diferentes lotes, tratando de usar las especies o productos vegetales de mayor calidad y consideración por parte del analista. Para desarrollar el tratamiento muchas veces es necesario en tratamiento de la muestra de estudio inactivando las enzimas que podrían reaccionar con el solvente, también la disminución del tamaño de partículas juega un papel muy importante en el éxito de la extracción por que expone mayor cantidad del principio activo al solvente por el aumento de la superficie de contacto, así mismo otros factores como son la temperatura y la luz debe tenerse en cuenta en un proceso extractivo. Todo material no contemplado para la parte extractiva debe ser eliminado afín de no contaminar la muestra.

La farmacopea establece el uso cuidadoso de las drogas vegetales o tejidos animales para un proceso extractivo además de los solventes que se utilizan en cada momento. Cuando se pueda realizar la recuperación del solvente, este tendrá que llevarse a cabo por una forma de economizar costos y salud ambiental, si no es posibles los residuos se debe eliminar siguiendo las normas de Buenas Prácticas de Laboratorio. Una vez obtenido los extractos, estos deben almacenarse siguiendo los criterios <sup>28</sup>.

### **2.2.6. Prueba de susceptibilidad**

#### **2.2.6.1. Método de difusión en Agar**

Este método de muestra la actividad de un extracto antibiótico específico sobre la superficie de agar solidificada donde se siembra una suspensión bacteriana, se puede emplear discos, pozo y cilindros <sup>29</sup>.

#### **2.2.6.1.1. Método difusión en Agar Cilindro – Placa**

Se fundamenta este método en la difusión del extracto o antibiótico desde un cilindro metálico vertical sobre una superficie de solución Agar solidificada y anticipadamente inoculada mediante el microorganismo estudiado en placas para lograr la inhibición total del microorganismo inoculado en la zona de inhibición que puede mostrar un área circular alrededor del cilindro con el extracto o antibiótico. Los halos de inhibición serán directamente proporcionales a la cantidad de extracto o antibiótico añadido al cilindro metálico. Para esta técnica se necesita que el agar esté solidificado en una placa Petri para la colocación del cilindro metálico y a su vez debe estar a una temperatura compatible con la viabilidad microbiana que es a 42°C – 45°C.

El procedimiento que se emplea para este método consiste en colocar el medio empleado en las placas Petri de 100 x 20 mm que pueden contener una capa de base del medio sin inocular ya gelificado, luego se procede a inocular con la bacteria que se desea estudiar, para luego colocar los cilindros para dispensar la solución patrón y la muestra, así mismo la distribución de cada uno dependerá del diseño de ensayo microbiológico, las placas finalmente se incuban en condiciones establecidas según el microorganismo empleado. Luego del periodo en que se llevó a incubación se procede hacer la lectura de los halos de inhibición que se notará alrededor de cada cilindro, el tamaño de la zona queda efectuado por la sensibilidad de cada microorganismo que se estudie, su estado fisiológico y número de células viables. También existirán factores como las condiciones de incubación, la concentración de la muestra y el espesor del medio de cultivo ya que estos factores pueden modificar en gran magnitud la respuesta de la sustancia a evaluar <sup>29</sup>.



Figura N° 9 Método de difusión en agar cilindro placa<sup>41</sup>

## 2.3. Hipótesis

### 2.3.1. Hipótesis general

El extracto acuoso del fruto de *Passiflora tripartita* (Juss.) Poir. Var. *mollissima* (Kunth) Holm-Niels. & P. Jorg. (Tumbo) presenta actividad antimicótica sobre cepas de *Candida albicans* y *Candida tropicalis*.

### 2.3.2. Hipótesis específicas

1. El extracto acuoso del fruto de *Passiflora tripartita* (Juss.) Poir. Var. *mollissima* (Kunth) Holm-Niels. & P. Jorg. (Tumbo) presenta metabolitos secundarios.
2. El extracto acuoso del fruto de *Passiflora tripartita* (Juss.) Poir. Var. *mollissima* (Kunth) Holm-Niels. & P. Jorg. (Tumbo) presenta una concentración con mayor actividad antimicótica sobre cepas de *Candida albicans* y *Candida tropicalis*.
3. El extracto acuoso del fruto de *Passiflora tripartita* (Juss.) Poir. Var. *mollissima* (Kunth) Holm-Niels. & P. Jorg. (Tumbo) presenta mayor actividad antimicótica frente a Clotrimazol al 1 % sobre cepas de *Candida albicans* y *Candida tropicalis*.

## 2.4. Variables

### Variable independiente

Extracto acuoso del fruto de *Passiflora tripartita* (Juss.) Poir. Var. *mollissima* (Kunth) Holm-Niels. & P. Jorg. (Tumbo)

### Variable dependiente

Actividad antimicótica sobre cepas de *Candida albicans* y *Candida tropicalis*

### 2.4.1. Tabla de Operacionalización de Variables

VARIABLES	DIMENSIONES	INDICADORES
<b>V1: INDEPENDIENTE</b>  <b>Extracto acuoso del fruto de <i>Passiflora tripartita</i> Juss. (Tumbo)</b>	Prueba de solubilidad	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Muy soluble (+++)</li> <li>• Poco soluble (++)</li> <li>• Débilmente soluble (+)</li> <li>• Insoluble (-)</li> </ul>
	Marcha Fitoquímica	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Alcaloides</li> <li>• Triterpenos/esteroides</li> <li>• Carbohidratos</li> <li>• Azúcares reductores</li> <li>• Flavonoides</li> <li>• Glicósidos</li> <li>• Aminoácidos libres y grupos amino</li> <li>• Fenoles</li> <li>• Taninos</li> <li>• Cumarinas</li> <li>• Quinonas</li> <li>• Saponinas</li> </ul>
<b>V2: DEPENDIENTE</b>  <b>Actividad antimicótica sobre cepas de <i>Candida albicans</i> y <i>Candida tropicalis</i></b>	Concentración del extracto acuosos del fruto de <i>Passiflora tripartita</i> Juss. (Tumbo)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 5 %</li> <li>• 15 %</li> <li>• 30 %</li> <li>• 70 %</li> <li>• 75 %</li> <li>• 80 %</li> <li>• 90 %</li> <li>• 100 %</li> </ul>
	Método de Difusión en Agar cilindro – placa	Distancia de halo de inhibición con relación al desplazamiento del hongo y el punto de siembra de la muestra de fruto de <i>Passiflora tripartita</i> Juss. (Tumbo).

## 2.5. Marco conceptual

- **Acción fungicida:** es un efecto físicamente visible ya que trata de retardar crecimiento micelial del hongo <sup>31</sup>.
- **Cepa:** Cultivo formado por microorganismos de tipo fenotípicos provenientes de una porción derivada de un organismo mayor <sup>30</sup>.
- **Compuestos Fenólicos:** son un grupo de sustancias que dentro de su composición tiene un anillo aromático, y está unido a uno o más grupos de hidroxilo, también están presentes sus derivados funcionales como los esterres, glúcidos entre otros <sup>32</sup>.
- **Disco de sensibilidad:** Son discos impregnados de un antibiótico específico que es utilizado para realizar pruebas de sensibilidad por el método de Kirby-Bauer <sup>30</sup>.
- **Halo de inhibición:** Zona circular que ha sido inhibida por el agente antibacteriano <sup>30</sup>
- **Hongos Filamentos:** son microorganismos eucarióticos estos se reproducen por esporas, sexual o también asexualmente <sup>31</sup>.
- **Incubación:** Proceso de que facilita el crecimiento antibacteriano que debe contar con una temperatura óptima <sup>30</sup>.
- **Infecciones fúngicas:** son conocidas por causar enfermedades pueden clasificarse en dos grupos superficiales y profundos estos afectan a la piel e incluso pueden producir una infección más profunda en el epitelio <sup>31</sup>.
- **Medio de cultivo:** es una técnica muy importante para su estudio y su identificación de los microorganismos ya que son nutrientes que permiten el crecimiento en el laboratorio.
- **Patogenicidad:** Parte de la patología que estudia cómo se originan y desarrollan las enfermedades <sup>30</sup>.

## **CAPÍTULO III: MÉTODO**

### **3.1. Tipo de estudio**

Se trata de una investigación básica ya que proporcionó investigación nueva a las ya existentes.

Además de acuerdo a los objetivos planteados, se determinó también que fue un estudio de tipo:

- Observacional debido a que se registró visualmente los resultados de la investigación sin intervenir en el curso natural en los diferentes sucesos.
- Cuantitativo ya que se realizó mediciones de los diferentes resultados proporcionados por los halos de inhibición en las cepas.
- Transversal ya que la observación de las variables se desarrolló en un periodo de tiempo delimitado y determinado.

### **3.2. Diseño de estudio**

Experimental *in vitro* debido a que se manipuló una variable independiente y se medió la variable dependiente con el fin de obtener datos y consecuencias sobre un posible evento en particular.

### **3.3. Población**

**Población vegetal:** Fruto de *Passiflora tripartita* (Juss.) Poir. Var. *mollissima* (Kunth) Holm-Niels. & P. Jorg. (Tumbo) fue recolectada en una chacra ubicada en el distrito de Pomabamba, provincia de Pomabamba, departamento de Ancash que se encuentra con una altitud de 2.853 m, latitud de -8.85 y longitud de -77.4383.

**Población microbiana:** Cepas estandarizadas de *Cándida albicans* ATCC® 10231 y *Cándida tropicalis* ATCC 750 adquiridas a un laboratorio particular.

### **3.4. Muestra**

**Muestra vegetal:** 3 kg de fruto de *Passiflora tripartita* (Juss.) Poir. Var. *mollissima* (Kunth) Holm-Niels. & P. Jorg. (Tumbo) procedente del distrito de Pomabamba, provincia de Pomabamba, departamento de Ancash.

**Muestra microbiana:** Cepas ATCC de *Cándida albicans* y *Cándida tropicalis* cultivadas en placas Petri.

#### **3.4.1. Técnicas e Instrumentos de recolección de la muestra**

Se llevó una muestra recolectada de la especie de estudio al Museo de Historia Natural para su verificación taxonómica. (Anexo 1)

##### **3.4.1.1. Preparación del extracto**

- a. Selección de los frutos: Se procedió a la selección de los frutos que estuvieron en buenas condiciones, separando los deteriorados, los que presentaron hongos e insectos.
- b. Lavado de los frutos: Luego de la selección, se lavó los frutos con agua destilada.
- c. Secado de los frutos: Se procedió a extender los frutos en papel kraft para el secado a temperatura ambiente y luego se procedió a abrirlos y retirar el contenido interno.

Para la elaboración de la muestra se abrió el fruto con ayuda de un cuchillo fino, con ayuda de una cuchara se retiró el contenido de la pulpa y se exprimió todo el contenido del fruto, posteriormente la muestra fue refrigerada para ser utilizado. Una vez obtenido el producto, este no debió permanecer más de 15 días sin ser usado ya que pudo perder sus propiedades farmacológicas.

##### **3.4.1.2. Procedimiento de identificación**

Es producto extraído del vegetal se realizó siguiendo las técnicas establecida para extracción acuosa la que posteriormente procedió a ser identificada mediante



reactivos de precipitación y coloración (determinación de metabolitos secundarios por tamizaje).

#### **3.4.1.3. Preparación de extractos a diferentes concentraciones**

Para el desarrollo de la fase experimental inicial, se prepararon concentraciones al 5 %, 15 %, 30 % y 75 % p/v., posteriormente y después de obtener resultados negativos, se preparó nuevamente concentraciones al 70 %, 80 %, 90 % y 100 % p/v., con los cuales se realizó una segunda y tercera experimentación.

#### **3.4.1.4. Prueba de la actividad antimicótica**

##### **Preparación del inóculo**

Para preparar el inóculo, se utilizó las cepas ATCC de segunda replica: *Candida albicans* ATCC® 10231 y *Candida tropicalis* de ATCC 750.

Se preparó con el asa de cultivo o kohle la cepa ATCC 10231 de segunda replica en un tubo de solución salina (NaCl 0.9 %) de 5 mL, y otro tubo con la cepa ATCC 750. Se agitó bien y se ajustó a una densidad óptica 0,5 McFarland, añadiendo la cantidad necesaria de colonia de la cepa ATCC.

##### **Esterilización de los materiales**

Se tapó el matraz de Erlenmeyer con cantidad suficiente del algodón, al mismo tiempo se colocó todos los materiales envueltos cada uno de ellos en papel krappt diferente. Se llevó a estufa 180°C por un tiempo de una hora. Se dejó enfriar los materiales para luego recién ser usados.

##### **Preparación del agar y la muestra microbiana**

Para preparar el agar Sabouraud se pesó 10.4 g de agar y se diluyó con agua destilada para completar 160 mL. Luego se agregó 4 % de glucosa anhidra. Finalmente se llevó autoclavar a 121 °C durante 15 minutos.

Antes de plaquear se dejó enfriar el medio preparado para evitar la evaporación y por consiguiente la contaminación de las mismas.

Se colocó 5 cilindros metálicos y estériles en cada placa para luego verter 20 mL del medio preparado evitando la aparición de burbujas y se continuó hasta la última placa dejando que se solidifique para luego retirar los cilindros.

Se hizo sembrado por agotamiento con la cepa ATCC con ayuda de hisopo estéril y se repitió hasta tres veces la misma técnica en diferente posición de la placa para obtener un mejor crecimiento del inóculo siempre protegiendo la muestra con un mechero.

### **Colocación de la muestra**

Se colocó el clotrimazol 1 % con ayuda de una pequeña espátula estéril en todas las placas que nos sirvió como patrón.

Luego se colocaron diferentes concentraciones del extracto de tumbo (primer ensayo: 5, 15, 30 y 75 %; segundo y tercer ensayos: 70, 80, 90 y 100 %) en cada placa correspondiente.

Se vertió en cada espacio vacío dejado por el cilindro, se procedió a colocar las diferentes concentraciones del extracto de tumbo (primer ensayo: 5, 15, 30 y 75 %; segundo y tercer ensayos: 70, 80, 90 y 100 %).

Después de inocular todas las placas. Se procedió a guardar en una caja de tecnopor a temperatura ambiente promedio de 20 a 23°C durante 3 días.

Después de haber dejado tres días se observó si hubo inhibición de los extractos y clotrimazol vertidos en los cilindros.

Se realizó la medición de inhibición de halos de clotrimazol en cada placa.

Una vez concluido todo el procedimiento se procedió a eliminación de las placas trabajadas mediante el autoclave 121 de presión por media hora. Después se procedió botar en una bolsa roja para su eliminación como residuo inocuo.

### **3.4.2. Delimitación de la muestra**

La muestra fue obtenida en el departamento de Ancash, provincia de Pomabamba, distrito de Pomabamba.

### **3.5. Instrumentos**

#### **Materiales de laboratorio**

##### **Material de Vidrio limpios y/o estériles:**

02 Probetas de 100 mL  
03 Baguetas  
02 Pipetas capacidad de 1 mL  
02 Pipetas capacidad de 5 mL  
02 Pipetas capacidad de 10 mL  
04 Frasco ámbar de 250 mL  
01 Frasco ámbar de 1000 mL  
02 Frasco 500 mL Boeco  
12 Tubos de ensayo  
70 Placas Petri  
12 Matraz de Erlenmeyer

##### **Equipos e Instrumentos utilizados:**

Balanza analítica de la UIGV  
Equipo de Rotavapor  
Autoclave de la UIGV  
Estufa de la UIGV  
Refrigeradora de la UIGV  
Incubadora microbiológica  
Vernier digital  
Asa de Drigalsky  
Asa de kohle  
Gradilla  
Hisopos estériles  
Cilindros metálicos y estériles  
Cocina eléctrica  
Mechero  
Espátula de metal

### **Reactivos y solventes**

Ácido Clorhídrico al 1 %

Ácido Sulfúrico

Anhídrido acético

Tricloruro férrico al 5 %

Cloruro de sodio NaCl

Hidróxido de sodio NaOH 5% y 10%

Agua destilada

Acetona

Éter etílico

Cloroformo

Etanol 96°C

Solución salina fisiológica

Metanol

Diclorometano

N-hexano c.

Cintas de Magnesio metálico (Shinoda)

Ninhidrina 2,4 -DNFH - Nitrato de plata

Reactivos: de Dragendorff, de Mayer, de Bertrand, de Molish, de Lieberman-Burchard, de Fehling A y B, Gelatina, de Baljet, de Antrona y de Sonneschein

### **Medios de cultivo**

Agar Sabouraud glucosado

### **Otros**

Algodón

Cinta masking tape

Guantes estériles

Gorro

Mascarilla

Etiquetas para rotular

Tijera

Plumón indeleble

Cámara digital

Caja de tecnopor

### **Instrumentos de recolección de datos**

Los instrumentos usados para recolectar datos fueron las fichas de observación, diseñadas para cumplir la hipótesis de la tesis. Este instrumento fue revisado y evaluado mediante juicio de experto, con el fin de garantizar los criterios de validez, precisión y confiabilidad

Las fichas de observación fueron:

- Prueba de solubilidad
- Marcha fitoquímica
- Efecto antimicótico

Se realizó la interpretación de los halos de inhibición obtenidos con los parámetros de la escala de Duraffourd y Lapraz, útil para establecer la sensibilidad de un microorganismo patógeno frente a la acción de antimicóticos en un ensayo *in vitro*.

- (-) Nula: diámetro (< 8 mm)
- (+) Sensible: diámetro (8-14 mm)
- (++) Muy sensible: diámetro (14 - 20 mm)
- (+++) Sumamente sensible: diámetro (> 20 mm)

### **3.6. Análisis estadístico y Procesamiento de datos**

En el presente trabajo de investigación se calculó la media y desviación estándar que fueron presentados en tablas y gráficas. Se usó el software estadístico IBM SPSS en español, ver. 24 por Windows 10, para establecer la distribución de los datos recolectados a través de medidas de tendencia central, forma, dispersión y posición. Para la contratación de hipótesis, se utilizó el Análisis de Varianza (ANOVA), ya que permitió la comparación de las puntuaciones medias entre dos o más grupos muestrales.

Los resultados muestrales fueron inferidos a la población mediante estimación por intervalo a un 95 % de confianza.

## CAPÍTULO IV: PRESENTACION Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

### 4.1. Presentación de resultados

#### 4.1.1. Prueba de solubilidad

Al desarrollar la prueba de solubilidad del extracto acuoso del fruto de *Passiflora tripartita* (Juss.) Poir. Var. *mollissima* (Kunth) Holm-Niels. & P. Jorg. (Tumbo), se obtuvieron los siguientes resultados:

**Tabla 1 Prueba de solubilidad**

DISOLVENTES	SOLUBILIDAD
Agua	+++
Acetona	-
Metanol	+
Etanol	++
Cloroformo	-
N-Butanol	-
Éter etílico	-
N-hexano	-

**LEYENDA:**

Muy soluble       +++  
Soluble            ++  
Poco soluble     +  
Insoluble         -

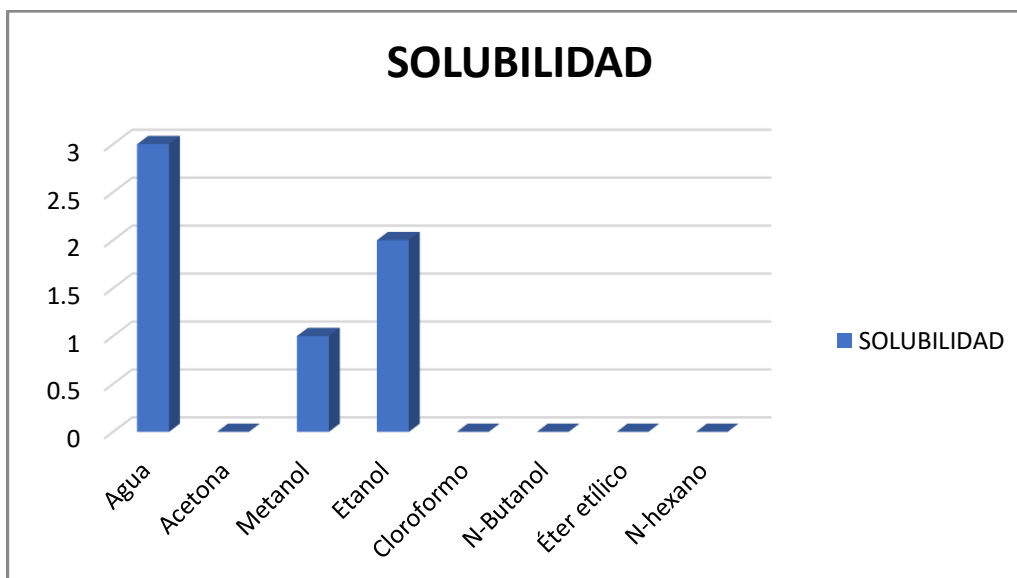


Figura N° 10 Prueba de solubilidad

#### 4.1.2. Marcha fitoquímica

Al desarrollar la marcha fitoquímica del extracto acuoso del fruto de *Passiflora tripartita* (Juss.) Poir. Var. *mollissima* (Kunth) Holm-Niels. & P. Jorg. (Tumbo), se obtuvieron los siguientes resultados:

Tabla 2 Marcha fitoquímica

METABOLITOS SECUNDARIOS	REACCIÓN	RESULTADO
COMPUESTOS FENÓLICOS	Ensayo de FeCl <sub>3</sub>	+++
TANINOS	Ensayo de Gelatina	-
FLAVONOIDES	Ensayo de Shinoda	+++
ANTOCIANINAS Y FLAVONOIDES CATÉQUICOS	Ensayo de Rosenheim	+
AMINOÁCIDOS LIBRES Y GRUPOS AMINO	Ensayo de Ninhidrina	-
ALCALOIDES	Ensayo de Dragendorff	++
	Ensayo de Mayer	+
	Ensayo de Bertrand	-
	Ensayo de Sinnenschein	+++
NAFTAQUINONAS, ANTRAQUINONAS Y ANTRANONAS	Ensayo de Borntrager	+++
TRITERPENOS Y ESTEROIDES	Ensayo de Lieberman-Burchard	-
SAPONINAS	Ensayo de Generación de espuma	+
GLICÓSIDOS	Ensayo de Baljet	+
CUMARINAS	Ensayo de NH <sub>4</sub> OH cc o NaOH 10 %	+
CARBOHIDRATOS	Rvo. De Molish	+++
	Antrona	-
AZÚCARES REDUCTORES	Fehling A + B	+++

**LEYENDA:**

Alta Evidencia	+++
Moderada Evidencia	++
Baja Evidencia	+
Sin Evidencia	-

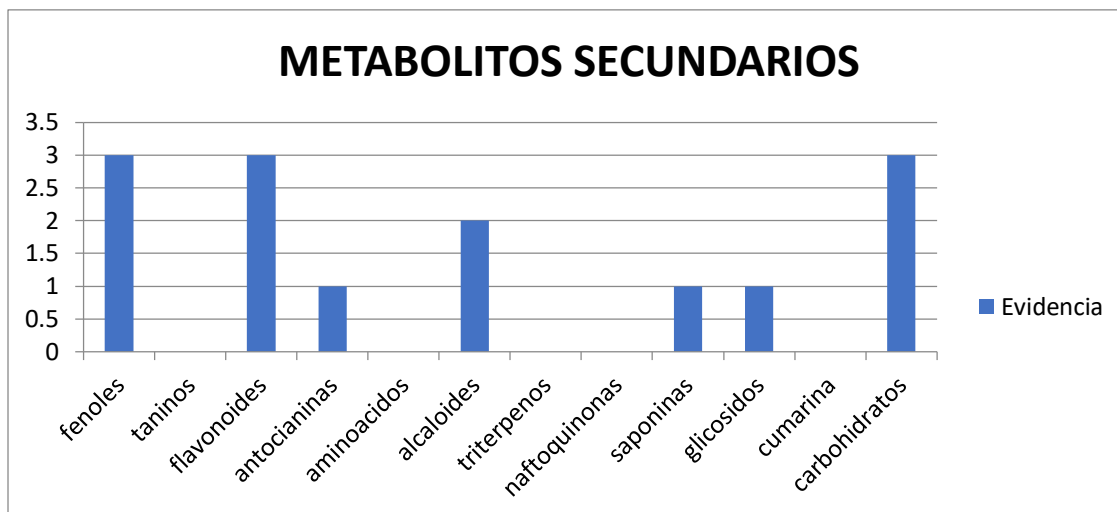


Figura N°11 Metabolitos secundarios

#### 4.1.3 Actividad antimicótica

Lectura de formación de halos de inhibición a diferentes concentraciones del extracto acuoso del fruto de *Passiflora tripartita* Juss. (Tumbo)

Tabla 3 Primer ensayo de la actividad antimicótica del extracto acuoso del fruto de *Passiflora tripartita* Juss. (Tumbo) en *Candida albicans*.

Concentración del extracto	PROMEDIO (mm)					
	3er día		4to día		5to día	
	Lectura 1	Lectura 2	Lectura 1	Lectura 2	Lectura 1	Lectura 2
5 %	< 8 mm	< 8 mm	< 8 mm	< 8 mm	< 8 mm	< 8 mm
15 %	< 8 mm	< 8 mm	< 8 mm	< 8 mm	< 8 mm	8-14 mm
30 %	< 8 mm	< 8 mm	< 8 mm	< 8 mm	< 8 mm	8-14 mm
75 %	< 8 mm	< 8 mm	< 8 mm	< 8 mm	< 8 mm	8-14 mm

Tabla 4 Primer ensayo de la actividad antimicótica del extracto acuoso del fruto de *Passiflora tripartita* Juss. (Tumbo) en *Candida tropicalis*.

Concentración del extracto	PROMEDIO (mm)					
	3er día		4to día		5to día	
	Lectura 1	Lectura 2	Lectura 1	Lectura 2	Lectura 1	Lectura 2
5 %	< 8 mm	< 8 mm	< 8 mm	< 8 mm	< 8 mm	< 8 mm
15 %	< 8 mm	< 8 mm	< 8 mm	< 8 mm	< 8 mm	8-14 mm
30 %	< 8 mm	< 8 mm	< 8 mm	< 8 mm	< 8 mm	8-14 mm
75 %	< 8 mm	< 8 mm	< 8 mm	< 8 mm	< 8 mm	8-14 mm



**Tabla 5 Segundo ensayo de la actividad antimicótica del extracto acuoso del fruto de *Passiflora tripartita* Juss. (Tumbo) en *Candida albicans*.**

Concentración del extracto	PROMEDIO (mm)					
	3er día		4to día		5to día	
	Lectura 1	Lectura 2	Lectura 1	Lectura 2	Lectura 1	Lectura 2
70 %	< 8 mm	< 8 mm	< 8 mm	< 8 mm	< 8 mm	< 8 mm
80 %	< 8 mm	< 8 mm	< 8 mm	< 8 mm	< 8 mm	< 8 mm
90 %	< 8 mm	< 8 mm	< 8 mm	< 8 mm	< 8 mm	< 8 mm
100 %	< 8 mm	< 8 mm	< 8 mm	< 8 mm	< 8 mm	< 8 mm

**Tabla 6 Segundo ensayo de la actividad antimicótica del extracto acuoso del fruto de *Passiflora tripartita* Juss. (Tumbo) en *Candida tropicalis*.**

Concentración del extracto	PROMEDIO (mm)					
	3er día		4to día		5to día	
	Lectura 1	Lectura 2	Lectura 1	Lectura 2	Lectura 1	Lectura 2
70 %	< 8 mm	< 8 mm	< 8 mm	< 8 mm	< 8 mm	< 8 mm
80 %	< 8 mm	< 8 mm	< 8 mm	< 8 mm	< 8 mm	< 8 mm
90 %	< 8 mm	< 8 mm	< 8 mm	< 8 mm	< 8 mm	< 8 mm
100 %	< 8 mm	< 8 mm	< 8 mm	< 8 mm	< 8 mm	< 8 mm

**Tabla 7 Tercer ensayo de la actividad antimicótica del extracto acuoso del fruto de *Passiflora tripartita* Juss. (Tumbo) en *Candida albicans*.**

Concentración del extracto	PROMEDIO (mm)					
	3er día		4to día		5to día	
	Lectura 1	Lectura 2	Lectura 1	Lectura 2	Lectura 1	Lectura 2
70 %	< 8 mm	< 8 mm	< 8 mm	< 8 mm	< 8 mm	< 8 mm
80 %	< 8 mm	< 8 mm	< 8 mm	< 8 mm	< 8 mm	< 8 mm
90 %	< 8 mm	< 8 mm	< 8 mm	< 8 mm	< 8 mm	< 8 mm
100 %	< 8 mm	< 8 mm	< 8 mm	< 8 mm	< 8 mm	< 8 mm

**Tabla 8 Tercer ensayo de la actividad antimicótica del extracto acuoso del fruto de *Passiflora tripartita* Juss. (Tumbo) en *Candida tropicalis*.**

Concentración del extracto	PROMEDIO (mm)					
	3er día		4to día		5to día	
	Lectura 1	Lectura 2	Lectura 1	Lectura 2	Lectura 1	Lectura 2
70 %	< 8 mm	< 8 mm	< 8 mm	< 8 mm	< 8 mm	< 8 mm
80 %	< 8 mm	< 8 mm	< 8 mm	< 8 mm	< 8 mm	< 8 mm
90 %	< 8 mm	< 8 mm	< 8 mm	< 8 mm	< 8 mm	< 8 mm
100 %	< 8 mm	< 8 mm	< 8 mm	< 8 mm	< 8 mm	< 8 mm

**Tabla 9 Ensayo de la actividad antimicótica del clotrimazol al 1 % crema en *Candida albicans*.**

Concentración del Fármaco al 1 %	PROMEDIO (mm)					
	3er día		4to día		5to día	
	Lectura 1	Lectura 2	Lectura 1	Lectura 2	Lectura 1	Lectura 2
0.1g	14 - 20 mm	14 - 20 mm	14 - 20 mm	14 - 20 mm	14 - 20 mm	14 - 20 mm

**Tabla 10 Ensayo de la actividad antimicótica del clotrimazol al 1 % crema en *Candida tropicalis*.**

Concentración del Fármaco al 1 %	PROMEDIO (mm)					
	3er día		4to día		5to día	
	Lectura 1	Lectura 2	Lectura 1	Lectura 2	Lectura 1	Lectura 2
0.1 g	14 - 20 mm	14 - 20 mm	14 - 20 mm	14 - 20 mm	14 - 20 mm	14 - 20 mm

#### Leyenda

- (-) Nula: diámetro (< 8 mm)
- (+) Sensible: diámetro (8-14 mm)
- (++) Muy sensible: diámetro (14 - 20 mm)
- (+++)  
Sumamente sensible: diámetro (> 20 mm)

## 4.2. Contrastación de hipótesis

### Hipótesis específica 1

El extracto acuoso del fruto de *Passiflora tripartita* (Juss.) Poir. Var. *mollissima* (Kunth) Holm-Niels. & P. Jorg. (Tumbo) presenta metabolitos secundarios.

**HO=** El extracto acuoso del fruto de *Passiflora tripartita* Juss. (Tumbo) NO presenta metabolitos secundarios.

**HA=** El extracto acuoso del fruto de *Passiflora tripartita* Juss. (Tumbo) SI presenta metabolitos secundarios.

**Resultado:** Después de realizar la marcha fitoquímica del extracto acuoso del fruto de *Passiflora tripartita* Juss. (Tumbo) se encontraron los siguientes metabolitos secundarios: fenoles, flavonoides, antocianinas, alcaloides, naftoquinonas, saponinas, glicósidos, cumarinas, carbohidratos y azúcares reductores.

**Decisión:** Por lo tanto se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alterna: El extracto acuoso del fruto de *Passiflora tripartita* Juss. (Tumbo) SI presenta metabolitos secundarios.

### **Hipótesis específica 2**

El extracto acuoso del fruto de *Passiflora tripartita* (Juss.) Poir. Var. *mollissima* (Kunth) Holm-Niels. & P. Jorg. (Tumbo) presenta una concentración con mayor actividad antimicótica sobre cepas de *Candida albicans* y *Candida tropicalis*.

**HO=** El extracto acuoso del fruto de *Passiflora tripartita* Juss. (Tumbo) NO presenta una concentración con mayor actividad antimicótica sobre cepas de *Candida albicans* y *Candida tropicalis*.

**HA=** El extracto acuoso del fruto de *Passiflora tripartita* Juss. (Tumbo) SI presenta una concentración con mayor actividad antimicótica sobre cepas de *Candida albicans* y *Candida tropicalis*.

**Resultado:** concluida la evaluación del efecto antimicótico del extracto acuoso del fruto de *Passiflora tripartita* Juss. (Tumbo) en cepas de *Candida albicans* y *Candida tropicalis*, ninguna de las concentraciones provocó efectos sobre estos microorganismos.

**Decisión:** Por lo tanto, se rechaza la hipótesis alterna y se acepta la hipótesis nula. El extracto acuoso del fruto de *Passiflora tripartita* Juss. (Tumbo) NO presenta una concentración con mayor actividad antimicótica sobre cepas de *Candida albicans* y *Candida tropicalis*.

### Hipótesis específica 3

El extracto acuoso del fruto de *Passiflora tripartita* (Juss.) Poir. Var. *mollissima* (Kunth) Holm-Niels. & P. Jorg. (Tumbo) presenta mayor actividad antimicótica frente a Clotrimazol al 1 % sobre cepas de *Candida albicans* y *Candida tropicalis*.

**HO=** El extracto acuoso del fruto de *Passiflora tripartita* Juss. (Tumbo) NO presenta mayor actividad antimicótica frente a Clotrimazol al 1 % sobre cepas de *Candida albicans* y *Candida tropicalis*.

**HA=** El extracto acuoso del fruto de *Passiflora tripartita* Juss. (Tumbo) SI presenta mayor actividad antimicótica frente a Clotrimazol al 1 % sobre cepas de *Candida albicans* y *Candida tropicalis*.

Tabla 11 ANOVA de un factor					
Diámetro de Halos (mm)					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	4864,189	4	1241,047	6197,902	,000
Dentro de grupos	3,002	15	,200		
<b>Total</b>	<b>4867,191</b>	<b>19</b>			

**Resultado:** según el p=Valor menor a 0.05, no se evidencio actividad superior del extracto acuoso del fruto de *Passiflora tripartita* Juss. (Tumbo) en cepas de *Candida albicans* y *Candida tropicalis* frente a clotimazol.

**Decisión:** por lo tanto, se rechaza la hipótesis alterna y se acepta la hipótesis nula, el extracto acuoso del fruto de *Passiflora tripartita* Juss. (Tumbo) NO presenta mayor actividad antimicótica frente a Clotrimazol al 1 % sobre cepas de *Candida albicans* y *Candida tropicalis*.

### 4.3. Discusión de resultados

Al realizar la identificación de los metabolitos secundarios presentes en el extracto acuoso del fruto de *Passiflora tripartita* Juss. (Tumbo) se pudo determinar la presencia de fenoles, flavonoides, antocianinas, alcaloides, naftoquinonas, saponinas, glicosidos, cumarinas, carbohidratos y azúcares reductores. Estos compuestos hallados son similares a los encontrados por Churampi L., Montes E.<sup>9</sup> quien estudio al Tumbo encontrando también la presencia de compuestos fenólicos, también son similares a los hallados por Inocente M<sup>11</sup> y Montero D.<sup>12</sup> hallando flavonoides, asimismo, estos estudios se comparan a los de Moreno C.<sup>13</sup> quien identifico la presencia de flavonoides, quinonas, taninos, saponinas, cumarinas, esteroides y alcaloides.

Al determinar qué concentración de extracto acuoso del fruto de *Passiflora tripartita* Juss. (Tumbo) presenta mayor actividad antimicótica sobre cepas de *Candida albicans* y *Candida tropicalis*, nuestros estudios demostraron que no tienen actividad pese a la presencia de metabolitos secundarios, esto puede deberse a la interacción entre metabolito y metabolito o la resistencia de la cepa de estudio. No existen estudios para relacionar acción ya que estudios similares se realizaron con otras especies botánica, por lo tanto, no se pueden comparar resultados.

Al comparar si el extracto acuoso del fruto de *Passiflora tripartita* Juss. (Tumbo) presenta mayor actividad antimicótica frente a Clotrimazol al 1 % sobre cepas de *Candida albicans* y *Candida tropicalis* nuestros resultados evidenciaron que el control positivo tiene mayor actividad.

## **CAPITULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES**

### **5.1. Conclusiones**

El extracto acuoso del fruto de *Passiflora tripartita* (Juss.) Poir. Var. *mollissima* (Kunth) Holm-Niels. & P. Jorg. (Tumbo) presentan metabolitos secundarios tales como: fenoles, flavonoides, antocianinas, alcaloides, naftoquinonas, saponinas, glicosidos, cumarinas, carbohidratos y azúcares reductores.

El extracto acuoso del fruto de *Passiflora tripartita* (Juss.) Poir. Var. *mollissima* (Kunth) Holm-Niels. & P. Jorg. (Tumbo) no presenta una concentración con mayor actividad antimicótica sobre cepas de *Candida albicans* y *Candida tropicalis*.

El extracto acuoso del fruto de *Passiflora tripartita* (Juss.) Poir. Var. *mollissima* (Kunth) Holm-Niels. & P. Jorg. (Tumbo) no presenta mayor actividad antimicótica en comparación a Clotrimazol al 1 % sobre cepas de *Candida albicans* y *Candida tropicalis*.

### **5.2. Recomendaciones**

- Se recomienda para futuras investigaciones que estudien otras partes de la planta (Tumbo) para detectar su actividad antimicótica.
- Se recomienda realizar estudios sobre cepas de mohos que puedan ser sensibles ante los metabolitos secundarios presentes en el Tumbo.
- Se recomienda para futuras investigaciones trabajar con tumbo proveniente de otras regiones a fin de comprobar la actividad antimicótica en otras especies de esas regiones.

## REFERENCIAS

1. Resistencia a los antimicrobianos [en línea]. Ginebra: OMS; 2018. [fecha de acceso 23 de febrero del 2018]. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs194/es/>
2. MINSA. Estrategias Y Metodologías de Intervención Para Mejorar El Uso De Los Antimicrobianos En El Ámbito Hospitalario. [en línea] Lima – Perú; 2007. [fecha de acceso 23 de febrero del 2018]. [http://www.digemid.minsa.gob.pe/UpLoad/UpLoaded/PDF/documento\\_tecnico\\_estrategias\\_y\\_metodologias\\_de\\_intervencion\\_atm.pdf](http://www.digemid.minsa.gob.pe/UpLoad/UpLoaded/PDF/documento_tecnico_estrategias_y_metodologias_de_intervencion_atm.pdf)
3. Maguiña, C. Uso Racional de antibióticos. [en línea] Lima - Segunda Edición: Marzo 2013. [fecha de acceso 23 de febrero del 2018]. <http://cmp.org.pe/wpcontent/uploads/2017/03/UsorRacionalAntibioticos.pdf>
4. Instituto Nacional de Salud. Informe de la Resistencia Antimicrobiana en Hospitales en Perú. [en línea] Lima; 2007. [fecha de acceso 23 de febrero del 2018]. [http://www.ins.gob.pe/repositorioaps/0/4/jer//Informe\\_Resistencia\\_2007pdf](http://www.ins.gob.pe/repositorioaps/0/4/jer//Informe_Resistencia_2007pdf)
5. Susana Zurita Macalupú. Situación de la resistencia antifúngica de especies del género *Cándida* en Perú. Rev. Perú. Med. Exp. Salud. Vol. 35 N° 1. Enero – Marzo 2018. [Internet]. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.17843/rpmesp.2018.351.3563>.
6. D.W. Warnock Trends in the epidemiology of invasive fungal infections Nippon Ishinkin Gakkai Zasshi. (2007); 48(1):1-12.
7. Lopez SN, Castelli MV, Zacchino SA, Dominguez JN, Lobo G, CharrisCharris J, Cortes JC, Ribas JC, Devia C, Rodríguez AM, Enriz RD. In vitro antifungal evaluation and structure-activity relationships of a new series of chalcone derivatives and synthetic analogues, with inhibitory properties against polymers of the fungal cell wall. Bioorg Med Chem. 2001;9(8):1999-2013.

8. Navarro García VM, Gonzales A, Fuentes M, Aviles M, Rios MY, Zepeda G, Rojas M. Antifungal activities of nine traditional Mexican medicinal plants. *J Ethnopharmacol.* 2003; 87 (1): 85-89.
9. Churampi L. Montes E. "Evaluación de la actividad antiinflamatoria del extracto etanólico del fruto de *passiflora mollissima* (kunth) l.h.bailey "tumbo serrano" y su uso como activo biológico en industria cosmética. Tesis Para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutica. Universidad Nacional Mayor de San Marcos Facultad de Farmacia y Bioquímica (2015).
10. Rodríguez C. actividad antimicótica in vitro del extracto acuoso liofilizado de las hojas de *clibadium surinamense* l. (huaca) tesis para optar el título de: químico farmacéutico universidad nacional de la amazonia peruana 2013.
11. Inocente C. et al. Compuestos fenolicos, actividad antioxidante y fotoprotectora in vitro de una crema gel elaborada con extracto estabilizado de tumbo serrano (*Passiflora mollissima* HBK) *Rev. Per. Quim. Ing. Quim.* Vol 17 vol.2 N 14. Pag. 27 – 33.
12. Montero D. Actividad antioxidante de nueve especies de *Passiflora*. Facultad de ciencia y Agronomía de la Universidad de Sao Pablo Brazil 2015 .
13. Moreno C., Castañeda G. Caracterización fitoquímica y cuantificación de fenoles y antocianos de extractos foliares, radicales y florales de *pasiflora tripartita* juss *Rev. Ciencia amazónica* vol 2 pag 175- 235 (2015).
14. Anselmo R. actividad antimicótica del extracto etanólico de las hojas de *lomanthus truxillensis* cabrera en cepas de *candida albicans* atcc 10231 y *aspergillus brasiliensis* atcc 16404, in vitro. tesis para optar el título profesional de químico farmacéutico y bioquímico. universidad inca garcilaso de la vega. 2018.
15. Zucolotto. Estudio de metabolitos secundarios de la especie de *Passiflora tripartita* var. de américa del sur. 2015.



16. Simirgiotis. Estudio de los extractos metanólicos de cáscara y el zumo de fruta de *P. tripartita*. 2013.
17. Pimentel. B. "Candidiasis Vaginal". MedFamiliares. 2008. [Internet]. Disponible en:  
[http://www.mflapaz.com/Revista\\_6/revista\\_6\\_pdf/6%20Candidiasis%20vaginanal.pdf](http://www.mflapaz.com/Revista_6/revista_6_pdf/6%20Candidiasis%20vaginanal.pdf)
18. Jimenez. S. "Infecciones Vaginales y su Tratamiento". 2009. [Internet]. Disponible en:  
[http://www.saludpr.com/infecciones\\_vaginales\\_y\\_su\\_tratamiento.htm](http://www.saludpr.com/infecciones_vaginales_y_su_tratamiento.htm)
19. Morales. G, Yaneth. M. "Candidiasis en mujeres en edad reproductiva que asistieron al hospital Eduardo Arredondo Daza en la ciudad de Valledupar". Vol. 2 N° 2. Enero – Junio 2012. [Internet]. Disponible en:  
<http://acimcolombia.net/unicesar/rcmt/ARTICULO2.pdf>
20. Tapia P Cecilia. Candidiasis vulvovaginal. Rev. chil. infectol. [revista en la Internet]. 2008 Ago [fecha de acceso 12 de Febrero de 2014]; 25(4): 312-312. Disponible en:  
[http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S071610182008000400016&lng=es](http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S071610182008000400016&lng=es).
21. Gaitán Fernández I. Actividad de doce plantas nativas guatemalcas contra *Sporothrix schenckii*. [tesis]. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala; 2005.
22. Mostacero J. Plantas medicinales del Perú: Taxonomía ecogeografía, fenología y etnobotánica Trujillo Perú 2011 pp 444 – 445.
23. Escobar L. Passifloraceae. En flora de Colombia. Instituto de ciencias naturales. Museo de Historia Natural Universidad Nacional de Bogotá Colombia 2014 pp 79 -81.

24. Tapia M, Frías A. Guía de campos de los cultivos andinos. FAO y ANPE. Lima 2007.
25. Rojano B, Acosta K, Correa F. Capacidad atrapadora de radicales libres de *Passiflora mollissima* (Kunth) L. H. Bailey (curuba). *Revista Cubana de Plantas Medicinales*. 2012; 17(4): 408-419.
26. Bonkanka C. Evolución farmacológica de terpenos y flavonoides de origen vegetal. Universidad La Laguna. Tenerife. España. 2007.
27. Mariné M, Pastor FJ, Serena C, Guarro J. Efficacy of triazoles in a murine disseminated infection by *Candida krusei*. *Antimicrob Agents Chemother* 2009; 53: 3585–3588.
28. Bruneton, J. Farmacognosia, fitoquímica, plantas medicinales. 2da. España: Acribia; 2001.
29. Gorriti A, Jurado B, Quispe F. Manual de Laboratorio I y II. 1era ed. Lima. UNMSM. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Cátedra de Farmacognosia y Medicina Tradicional. 2004: 25.
30. Pontón J, Moragues D, Gené J, Guarro J, Quindós G. Hongos y actinomicetos alérgicos. Bilbao: Revista Iberoamericana de Micología, 2002.
31. Arenas E. Antifúngicos de uso clínico. Análisis de un laboratorio de Micología. *Rev. Ciencia y Trabajo* (2005); 15(1):52-67.
32. Miranda M, Cuellar A. Mención en Productos Naturales y Terapéuticos. Cuba: Editorial Universidad de la Habana, 2002.
33. GEFOR. *Candida albicans*. [Internet]. 2018 [acceso Enero de 2018]. Disponible en: <http://fundacionio.org/gefor/micologia/Candida%20albicans.html>

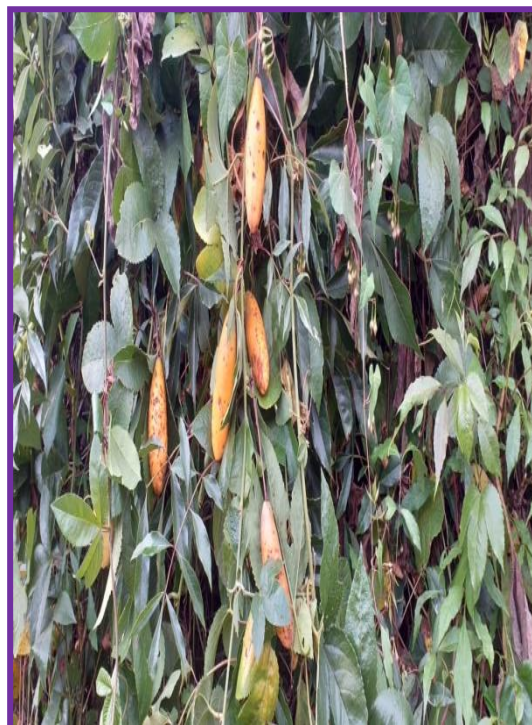
34. LEADING INTERNATIONAL FUNGAL EDUCATION. CANDIDA TROPICALIS. [Internet]. Disponible en: <http://www.life-worldwide.org/fungal-diseases/candida-tropicalis1>
35. INFOJARDIN. Curuba, Curubas, Taxo, Tumbo, Parcha, Tacso, Granadilla cimarrona *Passiflora tarminiana*, *Passiflora tripartita* var. *mollissima*. 2002-2017. Disponible en: <http://articulos.infojardin.com/Frutales/fichas/curubas-taxo-tumbo-parcha-tacso-passiflora-mollissima.htm>
36. Isaac César Córdova Lavado. La industrialización de una bebida natural a partir del tumbo andino (*Passiflora mollissima*) con linaza (*Linum usitatissimum*). Perú. Ingeniería Industrial. 2016.
37. Travel Group Perú. INFORMACIÓN POR REGIONES. [Internet]. Disponible en: [http://www.travelgroup.com.pe/mapa/informacion\\_regiones](http://www.travelgroup.com.pe/mapa/informacion_regiones)
38. José Luis Trillo Contreras. Extracción y purificación de productos naturales de interés industrial. España. Universidad de Almería. 2015.
39. Meza Olmedo Ane-Jo Mariana. Análisis de flavonoides en plantas medicinales por electroforesis capilar y determinación de su actividad biológica. México. Instituto Politécnico Nacional Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología.
40. Comisión Permanente de la Farmacopea de Argentina. Farmacopea Argentina. Séptima edición. 2003. Disponible en: [http://www.anmat.gov.ar/webanmat/fna/pfds/Farmacopea\\_Argentina\\_2013\\_Ed.7.pdf](http://www.anmat.gov.ar/webanmat/fna/pfds/Farmacopea_Argentina_2013_Ed.7.pdf)
41. MSc. María Salas Arruz. Ensayos Microbiológicos en Control de Calidad: Aspectos relevantes. [Internet]. Disponible en: <https://docplayer.es/88149962-Ensayos-microbiologicos-en-control-de-calidad-aspectos-relevantes.html>

## ANEXOS

### Anexo 1 Certificado botánico

	<p>UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO <b>MUSEO DE HISTORIA NATURAL</b></p>	
<b>CONSTANCIA N° 011-USM-2019</b>		
<p>LA JEFA (e) DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:</p>		
<p>La muestra vegetal (rama y fruto) recibida de UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA; ha sido estudiada y clasificada como: <i>Passiflora tripartita</i> (Juss.) Poir. Var. <i>mollisima</i> (Kunth) Holm-Niels. &amp; P. Jorg. y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988).</p>		
<p><b>DIVISION: MAGNOLIOPHYTA</b></p>		
<p><b>CLASE: MAGNOLIOPSIDA</b></p>		
<p><b>SUBCLASE: DILENIIDAE</b></p>		
<p><b>ORDEN: VIOLALES</b></p>		
<p><b>FAMILIA: PASSIFLORACEAE</b></p>		
<p><b>GENERO: <i>Passiflora</i></b></p>		
<p><b>ESPECIE: <i>Passiflora tripartita</i> (Juss.) Poir. Var. <i>mollisima</i> (Kunth) Holm-Niels. &amp; P. Jorg.</b></p>		
<p>Nombre vulgar: "Tumbo" Determinado por: Mag. Asunción A. Cano Echevarría y Paúl Gonzales</p>		
<p>Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para fines de estudios.</p>		
<p>Lima, 21 enero de 2019</p>		
		
<p><b>Dra. Joaquina Albán Castillo</b> JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)</p>		
JAC/ddb		

Anexo 2 Recolección de Tumbo



### Anexo 3 Selección, lavado y secado de Tumbo



**Selección de Tumbo**



**Lavado de la muestra (Tumbo)**



**Secado de Tumbo**

Anexo 4 Obtención de la muestra

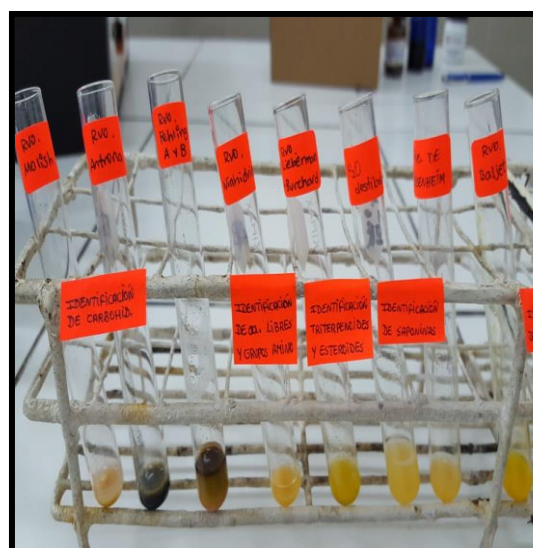


Anexo 5 Prueba de solubilidad

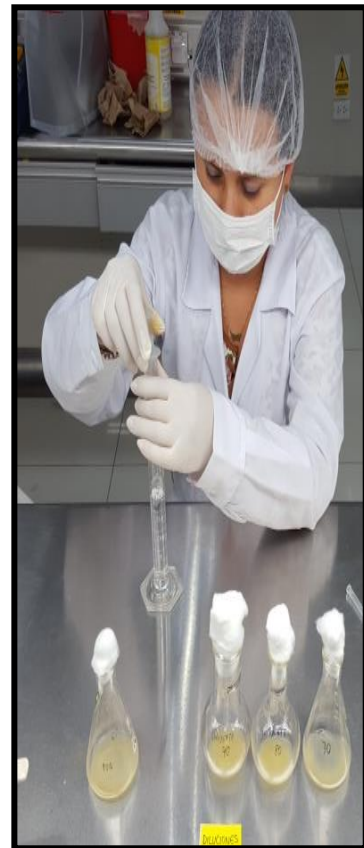
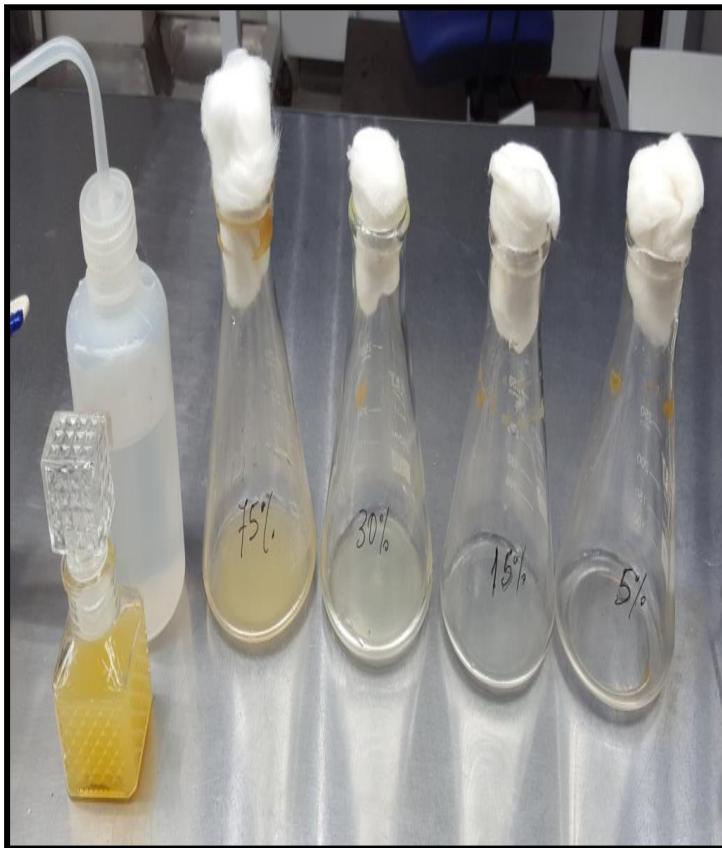




# Anexo 6 Marcha fitoquímica



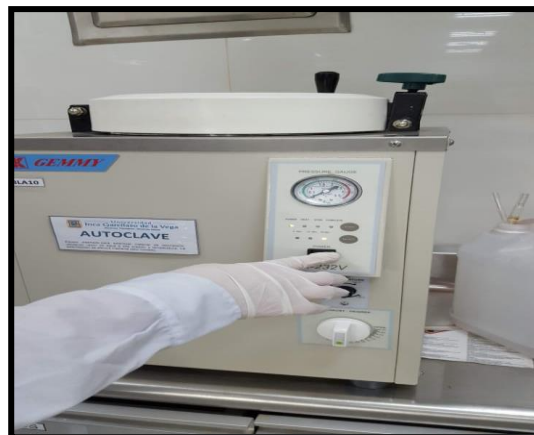
## Anexo 7 Preparación de extractos a diferentes concentraciones



## Anexo 8 Análisis microbiológico (Actividad antimicótica)



**Esterilización de los materiales**



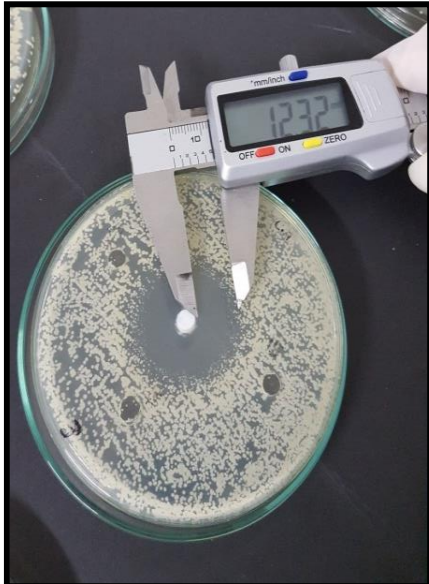
**Preparación del medio cultivo**



**Preparación de la muestra microbiana**



**Colocación de la muestra**



**Medición de halos de inhibición**

## Anexo 9 Matriz de Consistencia

PROBLEMA GENERAL	OBJETIVO GENERAL	HIPÓTESIS GENERAL	VARIABLE INDEPENDENTE	DIMENSIONES	INDICADORES	METODOLOGÍA
¿El extracto acuoso del fruto de <i>Passiflora tripartita</i> (Juss.) Poir. Var. <i>mollisima</i> (Kunth) Holm-Niels. & P. Jorg. (Tumbo) presentará actividad antimicótica sobre cepas de <i>Candida albicans</i> y <i>Candida tropicalis</i> ?	Determinar si el extracto acuoso del fruto de <i>Passiflora tripartita</i> (Juss.) Poir. Var. <i>mollisima</i> (Kunth) Holm-Niels. & P. Jorg. (Tumbo) presenta actividad antimicótica sobre cepas de <i>Candida albicans</i> y <i>Candida tropicalis</i>	El extracto acuoso del fruto de <i>Passiflora tripartita</i> (Juss.) Poir. Var. <i>mollisima</i> (Kunth) Holm-Niels. & P. Jorg. (Tumbo) presenta actividad antimicótica sobre cepas de <i>Candida albicans</i> y <i>Candida tropicalis</i> .	Extracto acuoso del fruto de <i>Passiflora tripartita</i> (Juss.) Poir. Var. <i>mollisima</i> (Kunth) Holm-Niels. & P. Jorg. (Tumbo)	Prueba de solubilidad           Marcha Fitoquímica	<ul style="list-style-type: none"> <li>Muy soluble (+++)</li> <li>Poco soluble (++)</li> <li>Débilmente soluble (+)</li> <li>Insoluble (-)</li> </ul> <ul style="list-style-type: none"> <li>Alcaloides</li> <li>Triterpenos/ esteroides</li> <li>Carbohidratos</li> <li>Azúcares reductores</li> <li>Flavonoides</li> <li>Glicósidos</li> <li>Aminoácidos libres y grupos amino</li> <li>Fenoles</li> <li>Taninos</li> <li>Cumarinas</li> <li>Quinonas</li> <li>Saponinas</li> </ul>	<p>Diseño: Experimental</p> <p>Tipo: observacional, cuantitativo y transversal</p> <p>Población: 6 kg del fruto de <i>Passiflora tripartita</i> (Juss.) Poir. Var. <i>mollisima</i> (Kunth) Holm-Niels. &amp; P. Jorg. (Tumbo) y Cepas estandarizadas de <i>Candida albicans</i> y <i>Candida tropicalis</i></p> <p>Muestra: 3 kg del fruto de <i>Passiflora tripartita</i> (Juss.) Poir. Var. <i>mollisima</i> (Kunth) Holm-Niels. &amp; P. Jorg. (Tumbo) y Cepas ATCC de <i>Candida albicans</i> y <i>Candida tropicalis</i> cultivadas en placas Petri.</p> <p>Recolección de datos: fichas de observación</p> <p>Técnica: *Prueba de Solubilidad</p>

PROBLEMA ESPECÍFICO	OBJETIVO ESPECÍFICO	HIPÓTESIS ESPECÍFICA	VARIABLE DEPENDIENTE	DIMENSIONES	INDICADORES	
1 ¿El extracto acuoso del fruto de <i>Passiflora tripartita</i> (Juss.) Poir. Var. <i>mollisima</i> (Kunth) Holm-Niels. & P. Jorg. (Tumbo) tendrá metabolitos secundarios?	1. Identificar los metabolitos secundarios presentes en el extracto acuoso del fruto de <i>Passiflora tripartita</i> (Juss.) Poir. Var. <i>mollisima</i> (Kunth) Holm-Niels. & P. Jorg. (Tumbo).	1. El extracto acuoso del fruto de <i>Passiflora tripartita</i> (Juss.) Poir. Var. <i>mollisima</i> (Kunth) Holm-Niels. & P. Jorg. (Tumbo) presenta metabolitos secundarios.	Actividad antimicótica sobre cepas de <i>Candida albicans</i> y <i>Candida tropicalis</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Concentración del extracto acuoso de fruto de <i>Passiflora tripartita</i> (Juss.) Poir. Var. <i>mollisima</i> (Kunth) Holm-Niels. &amp; P. Jorg. (Tumbo)</li> <li>Método de Difusión en Agar cilindro – placa</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>5 %</li> <li>15 %</li> <li>30 %</li> <li>70 %</li> <li>75 %</li> <li>80 %</li> <li>90 %</li> <li>100 %</li> </ul>	<p>*Tamizaje fitoquímico</p> <p>* Difusión en Agar cilindro – placa</p> <p>Instrumentos:</p> <p>*Balanza analítica</p> <p>*Equipo de Rotavapor</p> <p>*Autoclave</p> <p>*Estufa</p> <p>*Refrigeradora</p> <p>*Incubadora microbiológica</p> <p>*Vernier digital</p> <p>*Cocina eléctrica</p> <p>*Mechero</p> <p>Procesamiento y análisis de datos:</p> <p>* Software estadístico IBM SPSS ver. 24 en español, por Windows 10</p> <p>* Análisis de Varianza (ANOVA)</p>
2 ¿Cuál será la concentración de extracto acuoso del fruto de <i>Passiflora tripartita</i> (Juss.) Poir. Var. <i>mollisima</i> (Kunth) Holm-Niels. & P. Jorg. (Tumbo) con mayor actividad antimicótica sobre cepas de <i>Candida albicans</i> y <i>Candida tropicalis</i> ?	2. Determinar qué concentración de extracto acuoso del fruto de <i>Passiflora tripartita</i> (Juss.) Poir. Var. <i>mollisima</i> (Kunth) Holm-Niels. & P. Jorg. (Tumbo) presenta mayor actividad antimicótica sobre cepas de <i>Candida albicans</i> y <i>Candida tropicalis</i> .	2. El extracto acuoso del fruto de <i>Passiflora tripartita</i> (Juss.) Poir. Var. <i>mollisima</i> (Kunth) Holm-Niels. & P. Jorg. (Tumbo) presenta una concentración con mayor actividad antimicótica sobre cepas de <i>Candida albicans</i> y <i>Candida tropicalis</i> .			Distancia de halo de inhibición con relación al desplazamiento del hongo y el punto de siembra de la muestra de fruto de <i>Passiflora tripartita</i> Juss. (Tumbo)	
3 ¿La actividad antimicótica del extracto acuoso del fruto de <i>Passiflora tripartita</i> (Juss.) Poir. Var. <i>mollisima</i> (Kunth) Holm-Niels. & P. Jorg. (Tumbo) será mayor frente a Clotrimazol al 1 % sobre cepas de <i>Candida albicans</i> y <i>Candida tropicalis</i> ?	3. Comparar si el extracto acuoso del fruto de <i>Passiflora tripartita</i> (Juss.) Poir. Var. <i>mollisima</i> (Kunth) Holm-Niels. & P. Jorg. (Tumbo) presenta mayor actividad antimicótica frente a Clotrimazol al 1 % sobre cepas de <i>Candida albicans</i> y <i>Candida tropicalis</i> .	3. El extracto acuoso del fruto de <i>Passiflora tripartita</i> (Juss.) Poir. Var. <i>mollisima</i> (Kunth) Holm-Niels. & P. Jorg. (Tumbo) presenta mayor actividad antimicótica frente a Clotrimazol al 1 % sobre cepas de <i>Candida albicans</i> y <i>Candida tropicalis</i> .				