

UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA



FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y BIOQUÍMICA

**EFFECTO ANTIMICÓTICO *IN VITRO* DEL EXTRACTO ETANÓLICO
DE *Vaccinium corymbosum* L. (ARÁNDANOS) EN CEPAS DE
“*Candida albicans*”**

**Tesis para optar al Título Profesional de Químico Farmacéutico y
Bioquímico**

TESISTAS:

Bach. Nataly Del Carmen Valdez Hinostroza

Bach. Jhonatan Cristhofer Tambini Pérez

ASESOR:

Mg. Carlos Casana Vargas

LIMA – PERÚ

2019

TITULO:

**EFFECTO ANTIMICÓTICO *IN VITRO* DEL EXTRACTO ETANÓLICO
DE *Vaccinium corymbosum* L. (ARÁNDANOS) EN CEPAS DE
“*Candida albicans*”**

DEDICATORIA

A Dios por concederme salud para el logro de mis objetivos y permitido llegar hasta este punto.

A mis padres, hermano, esposa, hija y familia por su amor, apoyo y motivación en todo este tiempo, gracias a ustedes he logrado llegar hasta aquí y ser quien soy, son los mejores. ¡Los amo!

A mi hija, Gloria Valentina, te dedico cada esfuerzo que realicé para esta investigación. Eres la más hermosa compañía y motivación.

¡Se los dedico a todos!

Jhonatan Tambini.

A Dios por haber permitido que concluya mi carrera satisfactoriamente

A mis padres: Noé y Carmen por su apoyo incondicional en mi formación profesional, y por haberme formado como persona con valores y principios.

A mi hermano Anthony Valdez que ha sido mi motivación para alcanzar mis metas.

Nataly Valdez

AGRADECIMIENTO

A Dios, familiares y nuestros asesores por sus enseñanzas y orientaciones dadas para el logro de nuestra tesis.

A nuestros padres que nos alentaron a seguir adelante y no rendirnos jamás.

ÍNDICE GENERAL

Dedicatoria	
Agradecimientos	
Índice de tablas	
Índice de figuras	
Índice de anexos	
Resumen	
Abstract	
Introducción	
CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	3
1.1 Descripción de la realidad problemática	3
1.2 Formulación del problema	4
1.2.1 Problema General	4
1.2.2 Problema Específicos	4
1.3 Objetivos de la investigación	4
1.3.1 Objetivo General	4
1.3.2 Objetivos Específicos	5
1.4 Justificación e importancia del estudio	5
CAPÍTULO II MARCO TEÓRICO	7
2.1 Antecedentes del estudio	7
2.1.1 Nacionales	7
2.1.2 Internacionales	10
2.2 Bases teóricas	14
2.2.1 <i>Vaccinium corymbosum L.</i> (arándanos)	14
2.2.1.1 Taxonomía	14
2.2.1.2 Historia	15
2.2.1.3 Habitat	15
2.2.1.4 Uso Medicinal	16
2.2.1.5 Composición química	17
2.2.2. <i>Candida albicans</i>	26
2.2.2.1 Morfología	26
2.2.2.2 Ciclo de vida	27
2.2.2.3 Patogénesis de <i>Candidiasis</i>	28
2.2.2.4 Epidemiología	29
2.2.2.5 Diagnóstico	30
2.2.2.6 Fármacos antifúngicos	31
2.2.2.7 Tratamiento General	34
2.2.2.8 Factores de riesgo	37
2.2.2.9 Profilaxis	39
2.3 Hipótesis	41
2.3.1 Hipótesis general	41
2.3.2 Hipótesis específicas	41
2.4 Variables	42

2.4.1	Tabla de operacionalización de variables	42
2.5	Marco conceptual	42
CAPÍTULO III: MÉTODO		46
3.1	Tipo de estudio	46
3.2	Diseño a utilizar	47
3.3	Población	48
3.4	Muestra	48
3.5	Técnicas e Instrumentos de Recolección de Datos	48
3.6	Procesamiento de Datos	49
3.7	Equipos, materiales y reactivos	49
3.8	Procedimiento experimental	50
CAPÍTULO IV: PRESENTACIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS		57
4.1	Resultados de la investigación	57
4.2	Discusión de resultados	60
4.3	Contrastación de hipótesis	62
CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES		70
5.1	Conclusiones	70
5.2	Recomendaciones	71
Referencias Bibliográficas		72

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.	Composición aproximada del zumo de arándano Americano a 7,5° Brix (100 g).	19
Tabla 2.	Azúcares del zumo de arándano americano.	19
Tabla 3.	Ácidos orgánicos del zumo de arándano.	19
Tabla 4.	Antocianósidos del zumo de arándano.	22
Tabla 5.	Contenido de flavonoles del zumo de arándano.	23
Tabla 6.	Algunas Infecciones frecuentes por hongos y su sensibilidad frente a los distintos antimicóticos.	35
Tabla 7.	Operacionalización de variables	43
Tabla 8.	Material de vidrio y otros	49
Tabla 9.	Equipo e instrumentos	50
Tabla 10.	Reactivos	50
Tabla 11.	Screening Fitoquímico	57
Tabla 12.	Prueba de Solubilidad	58
Tabla 13.	Distancia inhibitoria en mm de diámetro en las concentraciones control y concentraciones experimentales	58
Tabla 14	Estadística descriptiva de los halos de inhibición encontrados del extracto etanólico de <i>Vaccinium corymbosum L</i> (arándanos) frente a <i>Candida albicans</i>	59
Tabla 15.	ANOVA de un factor	60
Tabla 16.	Diámetros de inhibición en milímetros	64
Tabla 17.	Pruebas de los efectos inter-sujetos	65
Tabla 18.	Estadísticas para una muestra al 50%	67
Tabla 19.	Estadísticas para una muestra al 75%	68
Tabla 20.	Estadística para una muestra al 100%	69

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.	<i>Vaccinium corymbosum L.</i> (arándanos)	14
Figura 2.	Proantocianidina tetramérica	20
Figura 3.	Estructura general de las antocianidinas (aglicones de los antocianósidos o antocianinas).	21
Figura 4.	Estructura general de un flavonol	23
Figura 5.	Estructuras de los ácidos fenólicos	24
Figura 6.	Ciclo de vida del hongo <i>Candida</i>	28
Figura 7.	Estructura química del fluconazol	33

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Matriz de consistencia	79
Anexo 2. Certificado botánico	80
Anexo 3. Certificado de cepa <i>Candida albicans</i>	81
Anexo 4. Prueba de solubilidad	82
Anexo 5. Screening fitoquímico	83
Anexo 6. Ficha Técnica Analítica	84
Anexo 7. Testimonio fotográfico	98
Anexo 8. Eficacia Antimicótica en Arándanos	100
Anexo 9. Certificado Antimicótico	107

RESUMEN

El objetivo principal del presente trabajo es determinar el efecto antimicótico del extracto etanólico de *Vaccinium corymbosum L.* (arándanos) en cepas de *Candida albicans* in vitro. El método utilizado en este estudio fue de tipo experimental, in vitro, analítico, transversal y descriptivo. El efecto antimicótico del extracto de *Vaccinium corymbosum L.* (arándanos) al 50%, 75% y 100% se evaluó empleando el método de difusión en agar sobre cepas de *Candida albicans* y usando como control positivo fluconazol. Las mediciones arrojaron datos de los cuales se pudo evaluar los efectos inhibitorios frente al control positivo, también se observó que el efecto antimicótico del extracto de *Vaccinium corymbosum L.* (arándanos) al 50%, 75% y 100% comparados con Fluconazol como se tenía previsto fue menor. Terminado dicho estudio y en base a todo lo recolectado se concluye que el efecto antimicótico del extracto etanólico de *Vaccinium corymbosum L.* (arándanos) frente a *Candida albicans* depende de los niveles de concentración. También se pudo determinar la presencia de metabolitos secundario con acción antimicótica como las antocianinas (++) , flavonoides (++) , triterpénos (++) .

Palabras Clave: *Vaccinium corymbosum L.*, extracto etánolico, *Candida albicans*, efecto antimicótico.

ABSTRACT

The main objective of this work is to determine the antifungal effect of the ethanolic extract of *Vaccinium corymbosum L.* (blueberries) in strains of *Candida albicans* in vitro. The method used in this study was experimental, in vitro, analytical, cross-sectional and descriptive. The antifungal effect of the extract of *Vaccinium corymbosum L.* (blueberries) at 50%, 75% and 100% was evaluated using the agar diffusion method on strains of *Candida albicans* and using fluconazole as a positive control. The measurements yielded data from which the inhibitory effects could be evaluated against the positive control, the antifungal effect of the extract of *Vaccinium corymbosum L.* (blueberries) at 50%, 75% and 100% compared to fluconazole as it was had was also detected planned was lower. After completing this study and based on everything collected, it is concluded that the antifungal effect of the ethanol extract of *Vaccinium corymbosum L.* (blueberries) against *Candida albicans* depends on the concentration levels. It was also possible to determine the presence of secondary metabolites with antifungal action such as anthocyanins (++), flavonoids (++), triterpenes (++).

Key words: *Vaccinium corymbosum L.*, ethanol extract, *Candida albicans*, antifungal effect.

INTRODUCCION

La presente investigación tuvo como finalidad establecer el efecto antimicótico de los frutos de *Vaccinium corymbosum L.* (arándanos), en atención a que las plantas del género *Vaccinium*, solamente una reducida cantidad de esta especie son consideradas con importancia medicinal, en estas se encuentra el género *Vaccinium corymbosum L.* (arándanos) representando un aproximado de 80% del total de la cantidad cultivada. En el Perú aumenta cada vez su demanda de consumo, puesto que es un fruto con alto índice nutricional y otras propiedades que benefician la salud. Durante muchos años se realizaron investigaciones centradas en los beneficios de los frutos de *Vaccinium corymbosum L.* (arándanos), confirmando sus propiedades medicinales, de este modo se puede asegurar que existe mucha más información sobre este fruto. ⁽¹⁾

Los frutos de arándanos son utilizados para evitar diversas enfermedades en especial de las vías urinarias, ya que es un antibacteriano, antimicótico debido a su gran variedad de metabolitos, ayuda a su vez a los problemas de la vista, mejorar la circulación y es un gran antioxidante. Se puede afirmar que el efecto antimicótico de los frutos de arándanos se debe a la presencia de metabolitos secundarios como los flavonoides y antocianinas. ⁽¹³⁾

El hongo utilizado en la presente investigación, "*Candida albicans*" es una levadura que se encuentra en las mucosas de los aparatos digestivo, genitourinario, respiratorio y de piel, y son estas mucosas los reservorios más importantes y origen de candidiasis endógenas. Este tipo de infección que causa la *Candida albicans* es uno de los más grandes problemas de salud en la población ya que es un hongo que se adhiere fácilmente a las mucosas y crece con rapidez. ⁽¹⁶⁾

Por ello, esta investigación se sustenta en determinar el efecto antimicótico de ***Vaccinium corymbosum L.*** (arándanos), contra ***Candida albicans*** y para lo cual se utilizó diversas pruebas como: prueba de solubilidad, screening fitoquímico y método de disco – difusión (Kirby – Bauer), proponiendo con su desarrollo soluciones alternativas. ⁽²⁰⁾

En tal sentido la estructura de la investigación tiene el siguiente desarrollo: Capítulo I que contiene el planteamiento y formulación del problema de estudio. Capítulo II se presentan los antecedentes nacionales e internacionales, y las bases teóricas correspondientes a cada variable de estudio respectivamente, así mismo se realizan la definición de términos. Capítulo III desarrollo del diseño metodológico del estudio, se explican las técnicas e instrumentos de recolección de datos y fundamento de los equipos utilizados en la investigación. Asimismo, el procesamiento y análisis de los datos estadísticos. El capítulo IV se detalla la discusión de los resultados y se realiza la comprobación de la hipótesis y como última parte de la investigación se presenta el Capítulo V en el que se describe las Conclusiones y Recomendaciones.

CAPITULO I

EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1 DESCRIPCIÓN DE LA REALIDAD PROBLEMÁTICA

Muchos países latinoamericanos que están en crecimiento constante, cuentan con una flora herbaria con propiedades medicinales, lo que conforma el principal acceso terapéutico en medicina tradicional, tal es el caso del Perú que con su diversidad de plantas ayuda a encontrar y realizar diferentes trabajos de investigación e identificación de nuevos componentes, con actividad antimicótica en beneficio de la humanidad. Según los estudios realizados por investigadores “se estima que el Perú cuenta con más de 24 000 especies de plantas identificadas, con flores (Angiospermas y Gimnospermas), de las cuales (31,3%) son especies nativas”.⁽¹⁾

Actualmente en nuestro país se ha notado un aumento y variedades de casos de micosis, esta afección, en su mayoría, es causada por el hongo ***Candida albicans***, el cual se manifiesta, por lo general, causando una infección principal denominada infección mucocutánea, la cual presenta lesiones orales que se asocian con la infección del VIH, agravando a los pacientes, de ahí se incrementó su importancia, ya que afecta la calidad de vida de los pacientes y sobre todo que se consideran marcadores auxiliares de la progresión del sida y estado de la inmunosupresión. La *Candidiasis Orofaríngea* (CO) es muy común en los pacientes con VIH, ya que puede presentarse entre el 50 y 95 % lo que indica que viene siendo una infección oral más común en esta enfermedad.⁽²⁾

La presente investigación fue realizada a razón de haber investigado la magnitud causal del problema con la intención de contribuir a erradicar las enfermedades subyacentes, ayudados o combatidos con antifúngicos naturales, ya que el uso excesivo de medicamentos químicos como el de antifúngicos, pueden tener efectos adversos en vez de curarlo, puesto que destruyen las bacterias encargadas de controlar el equilibrio de algunas levaduras presentes en nuestro organismo.⁽²¹⁾

1.2 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

1.2.1 Problema general

¿El extracto etanólico de *Vaccinium corymbosum L.* (arándanos) tendrá efectos antimicóticos “in vitro” en cepas de *Candida albicans*?

1.2.2 Problemas específicos

1. ¿Qué metabolitos secundarios están presentes en el extracto etanólico de *Vaccinium corymbosum L.* (arándanos)?
2. ¿Cuál será la concentración del extracto etanólico de *Vaccinium corymbosum L.* (arándanos), que posee efecto antimicótico “in vitro” en cepas de *Candida albicans*?
3. ¿Qué nivel de eficacia presentará el extracto etanólico de *Vaccinium corymbosum L.* (arándanos) en comparación con el Fluconazol frente a cepas de *Candida albicans* en estudio in vitro?

1.3. OBJETIVOS

1.3.1 Objetivo general

Determinar el efecto antimicótico del extracto etanólico en diferentes concentraciones de *Vaccinium corymbosum L.* (arándanos) “in vitro” en cepas de *Candida albicans*.

1.3.2 Objetivos específicos

1: Identificar los metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de *Vaccinium corymbosum L.* (arándanos).

2: Determinar la concentración del extracto etanólico de *Vaccinium corymbosum L.* (arándanos) que posee efecto antimicótico “in vitro” en cepas de *Candida albicans*.

3: Comparar el nivel de eficacia que presentará el extracto etanólico de *Vaccinium corymbosum L.* (arándanos) y el Fluconazol frente a cepas de *Candida albicans* en estudio in vitro.

1.4 JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA DEL ESTUDIO

Las infecciones micóticas o fúngicas son provocadas por hongos que infectan la piel. Son enfermedades frecuentes, contagiosas y curables con un tratamiento correcto. En general, los hongos son microorganismos que crecen mejor en condiciones de humedad y calor. Por ello, muchas micosis suelen contraerse en lugares públicos como piscinas, duchas o vestuarios, lugares frecuentados por mucha gente y donde se dan las condiciones requeridas de humedad y calor.

Además, los hongos pueden comportarse como gérmenes oportunistas, es decir, que se aprovechan de una situación en la que el paciente tiene una disminución de sus defensas. Esto ocurre, por ejemplo, en los pacientes de edad avanzada, diabéticos o en los pacientes tratados con medicamentos para el cáncer (quimioterapia), entre otros.

Esta investigación sobre el efecto antimicótico del extracto etanólico de ***Vaccinium corymbosum L.*** (arándanos) busca nuevos conocimientos, para así dar una alternativa accesible en tratamientos por *candidiasis*, conectando a la población con métodos más saludables, beneficiosos y tradicionales.

En ese sentido, el estudio es relevante, ya que se trata de un problema común (*candidiasis*) relacionado a la salud. Cabe destacar que, las poblaciones más vulnerables son las que presentan escasez de recursos económicos y, para ellos, es más difícil acceder a un tratamiento farmacológico; por esta razón, esta investigación será factible, porque el acceso económico es escaso, ya que el ***Vaccinium corymbosum L.*** (arándanos) es de fácil acceso, de menos costo y actualmente mucho más comercial. Se dará, así, una alternativa más económica que la convencional para el control de *candidiasis* en las membranas mucosas, y así poder mejorar la calidad de vida en los pacientes con estos males en nuestro país.

Tendrá un beneficio directo principalmente en las poblaciones rurales y de menor ingreso económico, que no tienen acceso a centros de salud inmediata, ayudándolos a tratar y prevenir este tipo de enfermedades.

MARCO TEÓRICO

2.1 ANTECEDENTES DEL ESTUDIO

2.1.1 NACIONALES

Susana Z. (2018) ⁽³⁾ En este estudio se determinó “La situación de la resistencia antifúngica de especies del género *Candida* en Perú”. Para ello realizaron un estudio importante en pacientes con VIH/SIDA donde se estimó un total de 581 174 casos de enfermedades fúngicas, de los cuales 1557 casos correspondieron a candidemia y 1621 casos a aspergilosis invasiva. Sin embargo, estas cifras pueden estar subestimadas, debido a que las enfermedades fúngicas, no son de notificación obligatoria, además de la ausencia de un sistema de vigilancia epidemiológica, por consiguiente, es sumamente importante la vigilancia local y regional para conocer el perfil de sensibilidad y la distribución de especies de *Candida*, con la finalidad de instaurar una terapia antifúngica adecuada. Por concluir, para tal situación el conseguir un diagnóstico precoz, caracterizar las especies de *Candida* y detectar la resistencia fúngica a drogas, se constituyen en instrumentos básicos, para el control de esta micosis invasora.

Alcalá M (2011) ⁽⁴⁾ Realizo un estudio denominado “Actividad antimicótica del aceite esencial de las hojas de *Minthostachys mollis*(muña) comparado con el fluconazol en el cultivo de *Candida albicans* de Junin”. Estudiaron el efecto antimicótico midiendo 80 halos de inhibición distribuidos en 5 grupos mediante el método Kirby-Bauer para ello usaron una cepa clínica de *Candida albicans*. Los grupos de estudio fueron grupo muña 25%, grupo muña 50%, grupo muña 100%, un grupo control positivo (Fluconazol), y un grupo control negativo (aceite mineral). El análisis estadístico se realizó mediante la Prueba de Kruskal-Wallis y el Test de Dunn usando el paquete SPSS v.17.0. Se consideró un nivel de

significancia $< 0,05$. La mediana de los halos de inhibición del GM25% fue de (32,00 mm); del GM50% (40,00 mm); del GM100% (46,80mm) y del grupo Fluconazol (39,00mm). No se obtuvo halos de inhibición en el grupo control negativo. Se encontró diferencia significativa entre GM25%, GM100% y el grupo Fluconazol ($p < 0,001$), más no entre este último y GM50% ($p > 0,05$). Concluyeron que el aceite esencial de las hojas de *Minthostachys mollis* (al 100%) tuvo mayor efecto contra la *Candida albicans* que el Fluconazol; además, el efecto antimicótico del Fluconazol fue mayor que la *Minthostachys mollis* al 25%, y fue el mismo que la *Minthostachys mollis* al 50%.

Ruiz Q. (2015) ⁽⁵⁾ Elaboró un estudio "Determinación de la actividad antifúngica contra *Candida albicans* y *Aspergillus niger* de 10 plantas) medicinales de 3 departamentos del Perú". El estudio realizado fue in vitro prepararon doce extractos etanólicos correspondientes a diez plantas medicinales peruanas; *Annona cherimolia* Mill. (hojas), *Annona muricata* L. (corteza y hojas), *Bidens pilosa* L. (partes aéreas), *Hypericum laricifolium* L. (partes aéreas), *Juglans neotropica* Diels (corteza), *Piper spp.* (hojas), *Plantago major* L. (hojas), *Psidium guajava* L. (hojas), *Schinus molle* L. (corteza y hojas) y *Spartium junceum* L. (planta entera). Las especies fueron recolectadas en el departamento de Amazonas, excepto *Schinus molle* L. (Apurímac) y *Annona muricata* L. (Lima). 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. De doce extractos investigados, seis presentaron actividad antifúngica consistente con un diámetro de halos de inhibición ≥ 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. La CMI de los extractos que presentaron actividad consistente frente a *Candida albicans* ATCC 10231, fue

de 250 µg/mL para *Hypericum laricifolium* L., *Juglans neotropica* Diels, *Psidium guajava* L. y *Schinus molle* L. (un extracto de corteza y uno de hojas) y de 500µg/mL para *Piper spp.* No se determinó la CMI de los extractos (*Juglans neotropica* Diels y *Psidium guajava* L.) que presentaron halos frente al *Aspergillus niger* ATCC 16404 por considerarlos sin actividad significativa (<18mm.). Los antifúngicos Nistatina y Fluconazol fueron incluidos en el estudio como controles positivos.

Anselmo R. (2018) ⁽⁶⁾ El objetivo del estudio fue “Determinar si el extracto etanólico de las hojas de *Lomanthus truxillensis* tiene actividad antimicótica comprobando así su efecto inhibitorio en cepas de *Candida albicans* y *Aspergillus brasiliensis*”. En la metodología se realizó la marcha fitoquímica donde se obtuvo: alcaloides, flavonoides, aminoácido, taninos, quinonas, glicósidos, saponinas, compuestos fenólicos, azúcares reductores y esteroides, también se calculó la actividad antimicótica por el método de difusión de agar y las concentraciones que se administraron del extracto etanólico de las hojas de *Lomanthus truxillensis* Cabrera, fueron de 5%, 15%, 30% y 75%; a las cuáles se le realizó ensayos microbiológicos. Demostrando que el extracto etanólico vegetal tuvo efecto inhibitorio frente a *Candida albicans* y *Aspergillus brasiliensis*, al aplicar diferentes concentraciones, siendo de concentración mínima inhibitoria el 5%, respecto a los halos de inhibición, se logró obtener una sensibilidad límite en concentraciones de 5% y 15%. Mientras que a concentraciones de 30% y 75%, se logró obtener una sensibilidad mayor, donde se evidenció la actividad antimicótica significativa. En conclusión, el cultivo de *Candida albicans* presentó mayor sensibilidad frente al extracto etanólico de concentración 75% con un promedio de 22,01mm (halo de inhibición) siendo más eficaz en la actividad antimicótica, mientras que, frente al cultivo *Aspergillus brasiliensis* presentó un promedio de 9,96mm (halo de inhibición), encontrándose una diferencia estadística con $p < 0,05$.

Soto H. (2014) ⁽⁷⁾ Realizo un estudio llamado “Efecto Antibacteriano y Antifúngico comparativo de los extractos acuosos del *Zea Mays* L. (maíz morado), *Rubus glaucus* (mora andina); *Opuntia soherensii* (ayrampo) y diseño de un gel de

limpieza cútanea”. Donde elaboraron extractos que fueron sometidos a un screening fitoquímico identificándose la presencia de compuestos fenólicos, taninos, flavonoides y azúcares reductores. Asimismo, se determinó su actividad antibacteriana y antifúngica por el método de difusión en agar. Los extractos de los frutos se obtuvieron por dos tipos de extracción (una acuosa y la otra alcohólica). Los extractos obtenidos por extracción alcohólica de los frutos del *Rubus glaucus* (mora) y *Opuntia soherensii* (ayrampo) demostraron mejor actividad. La formulación del gel se realizó en base a la estabilidad y consistencia del producto. La adición de los extractos al gel base dieron resultados positivos, determinándose su actividad antibacteriana y antifúngica por el método de difusión en agar.

2.1.2 INTERNACIONALES

Vallejo.C, Rollan.G, Rodriguez.M (2019) ⁽⁸⁾ Desarrollaron un estudio sobre “Actividad antifúngica de extractos fenólicos de arándanos sobre levaduras contaminantes de jugos”. Tuvieron como objetivo la caracterización del perfil de compuestos fenólicos presentes en diferentes variedades de arándanos cultivados en Tucumán y la evaluación de su actividad antifúngica potencial contra levaduras aisladas de jugos de fresa contaminados. Utilizaron el método de fracción fenólica de las variedades de arándanos *Misty*, *Blue Crisp*, *O'neal* y *Millennium* se extrajeron con acetato de etilo y la composición fenólica se evaluó con TLC, reactivo Folin Ciocalteu y HPLC-DAD. El aislamiento e identificación de la levadura del jugo deteriorado se realizó en medios YMPG suplementados con cloranfenicol, Se construyó la caracterización fenotípica y genotípica y el árbol filogenético. La actividad antifúngica en levaduras aisladas se estudió determinando la viabilidad y el efecto sobre la síntesis de ergosterol en presencia de compuestos fenólicos. Resultados: La proliferación fenólica fue diferente entre las variedades, pero el ácido clorogénico fue el compuesto mayoritario en todas ellas. Se aisló e identificó *Hanseniaspora osmophila* en jugo deteriorado. Los compuestos fenólicos presentes en los arándanos disminuyen el crecimiento de la levadura, así como la síntesis de ergosterol. Concluyeron en que su estudio es

el primero sobre la diferenciación del perfil de polifenoles entre las variedades de arándanos y la actividad antifúngica de estos extractos polifenólicos contra levaduras de deterioro aisladas e identificadas de nuestra región.

Bernal L. (2017) ⁽⁹⁾ Realizó un estudio con nombre " Evaluación de la variación en perfiles cromatográficos, capacidad antioxidante y actividad antifúngica de especímenes silvestres de agraz" Utilizaron veintiocho extractos etanólicos de hojas y tallos pertenecientes a la especie *Vaccinium*, inicialmente se determinó el perfil químico a través de cuantificación de fenoles (CFT), flavonoides (FL) y capacidad captadora de radicales libres (CCRL). Catorce extractos acuosos de los frutos fueron evaluados inicialmente se determinó el perfil químico a través de cuantificación de fenoles (CFT), Antocianinas (AT) y capacidad captadora de radicales libres (CCRL); finalmente veintiocho extractos acuosos de hojas y tallos se evaluaron por medio de un método microescala de medio suplementado contra *Fusarium oxysporum*, agente causante del marchitamiento vascular en plantas de importancia económica como tomate (*Solanum lycopersicum*), banano (*Musa paradisiaca*) y clavel (*Dianthus caryophyllus*); Los extractos fueron perfilados usando LC-DAD. El análisis cromatográfico de los extractos indicó la presencia de compuestos particulares en algunos de estos, como es el caso de los flavonoides, antocianinas y algunas proantocinidinas; Un análisis multivariado por componentes principales (PCA) de los perfiles cromatográficos completos muestra algunos conglomerados. Estos confirman la similaridad de los extractos principalmente respecto a la composición de aquellos provenientes de madera y corteza, lo cual no es posible ver con una comparación directa de los cromatogramas o espectro obtenidos. La correlación entre la actividad antifúngica y la capacidad antioxidante (como variable de supervisión) y los datos cromatográficos fue llevada a cabo por medio de una regresión de mínimos cuadrados parciales (OPLS). Este análisis permitió encontrar algunos grupos de señales que tiene una alta correlación con la actividad los cuales fueron identificados tentativamente.

Ormozabal C. (2014) ⁽¹⁰⁾ “Capacidad antioxidante de extractos secos provenientes de berries: maqui (*Aristotelia chilensis*), murtilla (*Ugni molinae*) y arándano (*Vaccinium corymbosum*)”. El autor menciona en su estudio que, a lo largo del tiempo y actualidad, estas plantas han sido utilizadas como alimentos funcionales y fitofármacos, debido a su propiedad antioxidante, propiedades antiinflamatorias y antibacterianas. Al inicio, se midió la cantidad de polifenoles de los 3 extractos para ser usada como parámetro comparativo entre ellos. Se prepararon tres extractos los cuales tuvieron una acción de prevención en la aparición de la lipoperoxidación de las microsomas, y revirtieron y previnieron la oxidación de los tioles microsómicos con diferente potencia. Todos los extractos demostraron ser capaces de quelar el ion Cu^{2+} . Por su lado, el extracto de maqui mostró mayor actividad antioxidante, y el extracto de arándano. Por último, el autor menciona que la calidad y cantidad de los antioxidantes presentes en los diferentes extractos sería la posible diferencia y que estos poseen la propiedad, a través de diferentes mecanismos actuando de manera sinérgica.

LAZO (2004) ⁽¹¹⁾ “Estudio las propiedades antifúngicas de los extractos de hojas de *cassia grandis* (carao) y bulbos de *allium sativum* (ajo) en *microsporum canis*, *trichophyton rubrum* y *epidermophyton floccosum*”. Realizó una recolección de cada una de las plantas, se obtuvo los extractos hidroalcohólicos por medio del método de maceración, luego fueron concentrados utilizando un rotavapor. A los extractos obtenidos se les realizaron pruebas fitoquímicas preliminares para determinar en una forma cualitativa los principales metabolitos secundarios presentes en cada uno de ellos. Utilizando la técnica de Cromatografía en Capa Fina se logró la identificación de la alicina, el compuesto responsable de la actividad antifúngica del ajo. Los microorganismos de prueba en esta investigación fueron tres hongos pertenecientes a la clase de los dermatofitos: *Microsporum canis*, *Trichophyton rubrum* y *Epidermophyton floccosum*. Diferentes concentraciones de los extractos fueron evaluadas, partiendo de 2000ppm para determinar la Concentración Efectiva de los Extractos, Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y Concentración Mínima Fungicida (CMF). Utilizando el Ketoconazol al 1% y 1.2% como control positivo.

Sarkinas A, (2009) ⁽¹²⁾ desarrolló una investigación, denominada “Estudio comparativo de la composición de antocianinas, actividad antimicrobiana y antioxidante en frutos de arándanos (*Vaccinium myrtillus L.*) y arándanos (*Vaccinium corymbosum L.*)”. El objetivo principal de la investigación fue investigar y comparar la composición de antocianinas, la actividad antimicrobiana y antioxidante en la fruta y piel de arándano. Los resultados de la investigación revelaron que la mayor cantidad de antocianinas totales se observó en las pieles de frutas de los cultivares de arándanos. Los resultados, obtenidos por análisis cromatográfico, indicaron que la cianidina es una antocianidina dominante en muestras de arándano y malvidina en arándanos. Los extractos de cultivares de arándanos "Herbert", "Coville", "Toro" y frutos de arándano revelaron propiedades antimicrobianas. *Citrobacter freundii* (ATCC 8090) y *Enterococcus faecalis* (ATCC29212) fueron los más sensibles entre las ocho bacterias Gram-negativas y Gram-positivas probadas. No se establecieron diferencias significativas entre los extractos de bayas y piel. Los estudios con frutas mostraron que la actividad antioxidante más fuerte posee el cultivar de arándanos "Berkeley" (82.13 +/- 0.51%). Mientras tanto, la cantidad de radicales libres apagados en las muestras de arándano fue de 63.72 +/- 1.11%, respectivamente. La actividad antioxidante más baja se estimó en el cultivar de arándanos "Coville". En consecuencia, las propiedades antirradicales más fuertes se estimaron en las pieles de fruta "Ama" del cultivar de arándanos. Las muestras de piel de arándano también poseen una fuerte actividad antirradical (82.69 +/- 0.37%).

2.2 BASES TEÓRICAS

2.2.1 *Vaccinium corymbosum* L. (arándanos)

2.2.1.1 Taxonomía

Reino: Plantae
División: Magnoliophyta
Clase: Magnoliopsida
Orden: Ericales
Familia: Ericaceae
Subfamilia: Vaccinioideae
Tribu: Vaccinieae
Género: ***Vaccinium***
Especie: ***Vaccinium corymbosum* L.**



Figura 1: *Vaccinium corymbosum* L. (arándanos).

Fuente: Hamilton Wilmer Beltrán Santiago, ver Anexo 2

2.2.1.2 Historia

El arándano *Vaccinium corymbosum* L es una fruta del género ***Vaccinium***, pertenece a la familia de las ***Ericáceas***. Esta fruta crece en norte y sur de América, el centro de Europa, Madagascar y África. ⁽¹³⁾

El arándano es una de las especies más recientes en haber sido domesticado. Durante los inicios del S. XX en Norteamérica se formaron los primeros sistemas de identificación de arbustos y técnicas de propagación. Los cultivos actuales son producto de perfecciones, en función a las formas silvestres. ⁽¹³⁾

Treinta especies componen este género, sólo unas cuantas de ellas tienen importancia comercial. Entre ellas sobresale el ***Vaccinium corimbosum L.***, que representa cerca del ochenta por ciento de toda la superficie cultivada, seguido de otras especies como *V. ashei Reade*, con un 15%. Mientras que, el otro 5% sobresale: *V. angustifolium Aiton*, híbridos de *V. angustifolium x V. corymbosum*. ⁽¹³⁾

2.2.1.3 Hábitat

Los cultivos de arándanos requieren de temperaturas bajas para romper la dormancia (época de reposo) durante una época. Esta especie necesita de horas-frío que vienen determinadas genéticamente, siendo esta una de las particularidades que separan los grupos agronómicos establecidos. El conocido como “*highbush*” del Norte, tiene como principal especie al ***Vaccinium corymbosum L.***, que es oriundo de Norteamérica, esta simboliza el 75% de todo el cultivo de arándano en el mundo. Las plantas miden entre 1,5 y 7.0 metros. El término “*lowbush*” hace mención a aquellas con una altura inferior a 1,0 m. ⁽¹³⁾

2.2.1.4 Uso medicinal

El arándano es un fruto con alto índice de calidad nutricional y otras propiedades que benefician la salud humana. Se ha demostrado que la composición y el contenido en nutrientes bioactivos ayudan a reducir enfermedades degenerativas y cardiovasculares, por lo que cada día aumenta su demanda y consumo, tanto en fresco como industrializado. ⁽¹⁴⁾

Al tener alta demanda en el consumo ha provocado su siembra en áreas geográficas más templadas y la generación de variedades con menos requerimiento de frío en diferentes países del orbe. ⁽¹⁴⁾

El arándano azul o *highbush* (***Vaccinium corymbosum* L.**), tiene las características de ser resistente al frío y calidad del fruto y es la especie más cultivada en sus países de origen y alrededor del mundo. Al tener dichas características frente a la humedad ha generado que haya una diversidad genética y su crecimiento ha permitido generar variedades de requerimiento de poco o nulo frío. Entre las manifestaciones de la diversidad genética de arándano se encuentran características importantes como: rendimiento, tamaño de fruto, color, firmeza, sabor, resistencia a las enfermedades y daños mecánicos, vida de anaquel, que definen la adaptación del genotipo en un área específica, así como el contenido y composición de los compuestos bioactivos (Ríos de Souza et al., 2014; Rodríguez et al., 2010).
(14)

Otra de característica relevante está referida a que el fruto posee una pulpa jugosa. Es utilizado para zumos, mermeladas, licores, confituras, salsas en cocina, etc. Tiene numerosas propiedades nutraceuticas, el cual ha contribuido con el aumento del consumo. ⁽¹³⁾

El fruto es rico en fibras, por lo que su consumo diario y constante resulta apropiado en el tratamiento del estreñimiento y la debilidad intestinal. Su alto contenido de hierro, calcio, potasio, de taninos astringentes, así como de varios ácidos orgánicos. Teniendo además valores calóricos bajos debido a su aporte limitado de carbohidratos. ⁽¹³⁾

Farmacológicamente es usado como un excelente diurético. A excepción del extracto seco del fruto o de las hojas que se utiliza para contrarrestar procesos diarreicos, así como para rebajar la presencia de azúcar en el torrente sanguíneo ⁽¹³⁾.

Muchos estudios han comprobado que el consumir de manera frecuente restablece ampliamente la visión de las personas. El óptimo estado de vista de los indios de Norteamérica puede ser producto del consumo de especies silvestres, ya que era el soporte de su alimentación. ⁽¹³⁾

Además, es usado para calmar males oculares y agilizar la regeneración de la retina. Actualmente, está comprobado que los arándanos, con alto contenido de compuestos químicos, tiende a disminuir el índice de sustancias tóxicas y vinculadas con el Alzheimer. ⁽¹³⁾

2.2.1.5 Composición Química

Por un largo periodo de tiempo se consideró el zumo de arándano contribuye a mantener saludable el tracto urinario. Los estudios enfocados en cerciorar y entender la forma en que el arándano provee tal propiedad beneficiosa para la salud han dado como consecuencia pruebas científicas considerables que reafirmen los beneficios potenciales para la salud. ⁽¹⁴⁾

A través de un método de fraccionamiento biodirigido se han logrado reconocer las proantocianidinas como los componentes químicos responsables de frenar la adherencia de determinados tipos de *E. coli*, relacionados a infecciones del tracto urinario, a las células uroepiteliales. Así mismo se ha podido demostrar de manera in vitro que esta planta frena la adherencia de *H. pylori* (asociado a la incidencia de úlceras gastroduodenales), y determinados tipos de bacterias unidas a la placa dental y la gingivitis ⁽¹⁴⁾.

Las proantocianidinas del arándano, no permiten la oxidación in vitro de las LDL humanas lo cual se podrían considerar potenciales antioxidantes. Su consumo en polvo de zumo de arándanos ha demostrado la disminución in vivo del colesterol total y del LDL en un modelo animal. ⁽¹⁴⁾

En la tabla 1 se detalla la composición aproximada de zumo de arándano de concentración natural a 7, 5° Brix. Con la graduación Brix se mide la

concentración del zumo o porcentaje de sólidos solubles, que es técnicamente la sacarosa y se mide por hidrometría o refractometría. Según normativa industrial para la aprobación del zumo de arándano de concentración natural la graduación Brix debe ser 7, 5°.

Como indica la tabla 1, la composición del zumo de arándano está formada casi en su totalidad por agua y carbohidratos. Los 6,9 g del total de carbohidratos incluyen 3,7 g de azúcares (tabla 2), 3,1 g de ácidos orgánicos (tabla 3) y 0,1 g de fibra dietética. En el zumo de arándano, la concentración de fructosa con relación a la glucosa es inferior a uno, lo que es insólito comparado con otros zumos de fruta en los cuales la proporción es regularmente superior a uno. También es propio su aporte en ácido quínico, tal valor sirve para establecer la proporción de zumo de arándano americano en un producto, así como para detectar posibles adulteraciones. ⁽¹⁵⁾

En la tabla 3 no se consideran al ácido 2-furoico ni al ácido oxálico. Pero realizando análisis del ácido 2-furoico (ácido furan-2-carboxílico) junto con los ácidos fenólicos del cóctel de zumo de arándano se obtuvo una cantidad de 2,9 ppm. Mientras la cantidad de ácido oxálico, por su parte, fue de 5 ppm. El zumo de arándano y el ácido oxálico, por asociación, se han comprometido en la formación de cálculos renales. Sin embargo, los estudios han confirmado que el índice de ácido oxálico en el zumo de arándano es casi inexistente para el desarrollo de cálculos renales.

Los minerales en 100 g de zumo de arándano americano contienen hierro (0,3 mg), sodio (4 mg), calcio (7 mg) y potasio (85 mg). ⁽¹⁵⁾

TABLA 1. Composición aproximada del zumo de arándano americano a 7,5° Brix (100 g). Incluye ácidos orgánicos.

Componentes	Porcentaje de concentración
Agua	92,9 %
Solidos	7,1 %
Calorías	27
Carbohidratos totales	6,9 g
Proteínas	< 0,1 g
Grasas	< 0,1 g
Minerales	96 mg
Vitamina C	2 mg

Fuente: Cunningham D, Vannozzi S, Tuk R. “Constituyentes fotoquímicos del arándano americano y sus beneficios para la salud”.⁽¹⁵⁾

TABLA 2. Azúcares del zumo de arándano americano.

Tipo de Carbohidrato	Porcentaje de concentración
Glucosa	2,8 %
Fructosa	0,8 %
Sacarosa	< 0,05 %

Fuente: Cunningham D, Vannozzi S, Tuk R. “Constituyentes fitoquímicos del arándano Americano y sus beneficios para la salud”.⁽¹⁵⁾

TABLA 3. Ácidos orgánicos del zumo de arándano.

Ácidos orgánicos	Porcentaje de concentración
Cítrico	1,06 %
Quínico	1,05 %
Malico	0,78 %
Galacturónico	0,19 %
Siquímico	0,02 %

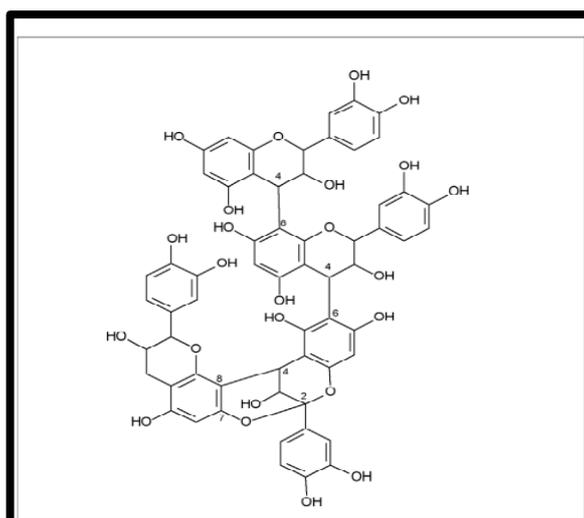
Fuente: Cunningham D, Vannozzi S, Tuk R. “Constituyentes fitoquímicos del arándano Americano y sus beneficios para la salud”.⁽¹⁵⁾

Proantocianidinas

Las proantocianidinas (PAC) son mayoritariamente oligómeros (OPC) o polímeros de flavan-3-oles unidos por 2 (tipo A) o 2 (tipo B) enlace inter-flavano ⁽¹⁵⁾. Las PAC, llamadas también como arándano americano son, por lo general, oligómeros y polímeros de epicatequina y epigallocatequina con 1 o más enlaces inter-flavano del tipo A. Al aumentar el nivel de polimerización incrementa el número de enlaces del tipo A. ⁽¹⁵⁾

En la siguiente figura se representa una OPC tetramérica con enlaces inter-flavano del tipo B 4-6 y 4-8 y un enlace inter-flavano de tipo A 4-8, 2-O-7. Al parecer, existe poca o ninguna actividad antiadherente relacionada a los monómeros, dímeros y oligómeros más altos de las PAC del arándano con todos los enlaces inter-flavano de tipo A y tipo B parece obligatorio para que las PAC tengan acción antiadherente contra la *E. coli* fimbriada tipo P. La cuantificación de PAC representa los numerosos desafíos, producto de la su origen polimérica y a la carencia de las sustancias de referencia. La heterogeneidad estructural basada en la representación de diferentes unidades de monómeros. ⁽¹⁵⁾

Figura 2. Proantocianidina tetramérica

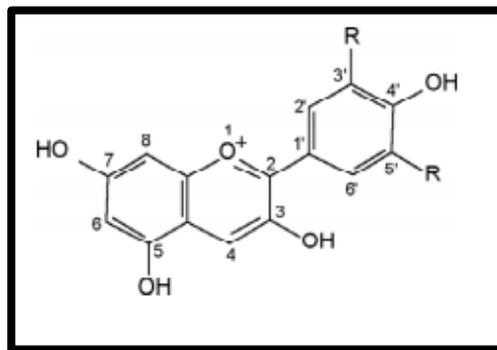


Fuente: Cunningham D, Vannozzi S, Tuk R. “Constituyentes fitoquímicos del arándano Americano y sus beneficios para la salud”. ⁽¹⁵⁾

Antocianósidos

Son conocidas como antocianinas, estas son un parámetro de calidad fundamental del arándano, debido al color del fruto y el zumo. La organización estructural de las antocianindinas (aglicones de los antocianósidos). Por hidroxilación o metoxilación de las posiciones 3' y 5' se originan los diferentes aglicones. Los antocianósidos se obtienen de la glicosilación de las antocianindinas, en la posición tres con respecto a los antocianósidos del arándano. ⁽¹⁵⁾

Figura 3. Estructura general de las antocianindinas (aglicones de los antocianósidos o antocianinas)



Fuente: Cunningham D, Vannozzi S, Tuk R. "Constituyentes fitoquímicos del arándano Americano y sus beneficios para la salud". ⁽¹⁵⁾

Se demostraron una variedad de efectos biológicos para los antocianósidos, entre los cuales se hallan las actividades antioxidantes, antifúngica, antimutagénica y antifúngica. Además, pueden poseer efectos en la salud cardiovascular al optimizar la fragilidad capilar. ⁽¹⁵⁾

En otros estudios se han demostrado que el consumo de los extractos de *V. myrtillus*, evidencian un mejoramiento de la actividad visual, así como la vascular, debido a la fracción antocianina, se conoció después de indagar, a los pilotos que consumieron mermelada de mirtillo poseían mayor visión nocturna durante la Segunda Guerra Mundial. ⁽¹⁵⁾

En la tabla 4, se denota que la totalidad de antocianósidos era de 8 mg/kg, aproximadamente, para este grupo de muestras de CZA. En comparación, se han detallado un contenido total de antocianósidos de 12-15 mg/kg en CZA, mientras que hemos encontrado en otras muestras de cóctel de zumo de arándano valores de hasta 25 mg/kg (datos no publicados). Todo el contenido de antocianósidos en el zumo de arándano americano puede haber variabilidad, debido a factores como la variación del cultivo de año a año, debe tenerse en cuenta que el perfil de antocianósidos y las proporciones relativas de antocianósidos individuales son muy firmes y componen un indicador bastante claro de la calidad del zumo de arándano americano estándar. ⁽¹⁵⁾

TABLA 4. Antocianósidos del zumo de arándano.

Antocianósidos	Concentración
Cianidina-3-galactosido	2,0 mg/l
Cinidina-3-arabinosido	1,4 mg/l
Cinidina-3-glucosido	0,1 mg/l
Peonidina-3-galactosido	2,8 mg/l
Peonidina-3-arabinosido	1,1 mg/l
Peonidina-3-glucosido	0,3 mg/l

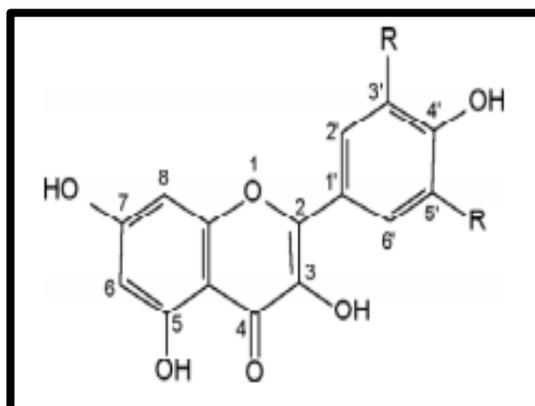
Fuente: Cunningham D, Vannozi S, Tuk R. "Constituyentes fitoquímicos del arándano Americano y sus beneficios para la salud". ⁽¹⁵⁾

Flavonoles

Los flavonoles son los componentes que aportan la coloración al fruto y al zumo. Estos transfieren la coloración amarilla, a través de la disolución y pueden crear copigmentos con los antocianósidos. La figura 4 muestra la estructura del aglicón de flavonol, en ellas puede sustituirse el hidroxilo en las posiciones 3' y 5'. En los heterósidos, se detectaron reemplazos de

glicosídicas en la posición 3. Se ha representado que los flavonoles tienen varias actividades biológicas, tales como: captadora de radicales, antioxidante, antiinflamatoria, analgésica y broncodilatadora, tal como un potencial resultado sobre la salud cardiovascular, por la mejora de la fragilidad capilar. ⁽¹⁵⁾

Figura 4. Estructura general de un flavonol



Fuente: Cunningham D, Vannozzi S, Tuk R. "Constituyentes fitoquímicos del arándano Americano y sus beneficios para la salud". ⁽¹⁵⁾

La información proporcionada de la tabla 5 se consiguió a través del mismo método y muestras que la información de antocianósidos presentados anteriormente. La cuantificación se ejecutó utilizando parámetros externos individuales de cada flavonol. ⁽¹⁵⁾

TABLA 5. Contenido de flavonoles del zumo de arándano.

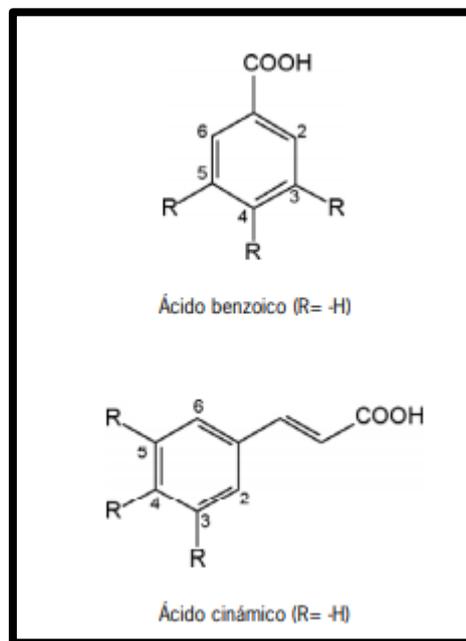
flavonoles	Concentración
Hiperosido	23,2 mg/l
Quercetina	13,0 mg/l
Miricetina	5,3 mg/l
Quercitrina	5,2 mg/l
Avicularina	1,8 mg/l

Fuente: Cunningham D, Vannozzi S, Tuk R. "Constituyentes fitoquímicos del arándano Americano y sus beneficios para la salud". ⁽¹⁵⁾

Ácidos fenólicos

Los ácidos fenólicos tienen propiedades muy provechosas para la salud humana. En la figura 5, se demuestra la organización estructural de los ácidos benzoico y cinámico. Los ácidos fenólicos más importantes del arándano son: el benzoico y el cinámico. Existen diferentes procesos biológicos con respecto a los ácidos fenólicos, tales como: la actividad antioxidante, antimicrobiana, captadora de radicales, inhibición de la agregación plaquetaria, supresión de la conformación de la placa dental, y otros. ⁽¹⁵⁾

Figura 5. Estructuras de los ácidos fenólicos



Fuente: Cunningham D, Vannozzi S, Tuk R. “Constituyentes fitoquímicos del arándano Americano y sus beneficios para la salud”. ⁽¹⁵⁾

Otros componentes

El arándano americano posee elementos muy provechosos para la salud. Asimismo, la pectina tiene un alto contenido de fibra, es decir, posee actividad anticancerígena e hipocolesterolemia ⁽¹⁵⁾. La pectina también es un ingrediente muy significativo en relación con el procesamiento del arándano para la producción de la mermelada, por sus características gelificantes. Similar a las PAC, la pectina, además presenta restos característicos para su

cuantificación y descripción cualitativa. Se detalló la existencia del ácido elágico en el arándano americano (concentración 120 mg/kg), en función a su peso seco ⁽¹⁵⁾. En la literatura se han detallado varias actividades antioxidantes, antimutagénica, anticarcinogénica y antiviral para el ácido elágico. ⁽¹⁵⁾

En el arándano se ha encontrado otro componente sumamente importante en la actualidad, el resveratrol, que está siendo usado en la industria cosmética y dermatológica para el cuidado de la piel y como potente antioxidante, a concentraciones similares a las del zumo de uva, de 1,07 y 1,56 nmol/g, respectivamente. El resveratrol está vinculado con la actividad anticancerígena e inhibición de COX1 y COX2. Tiene propiedades antioxidantes y es el componente del vino tinto que se ha vinculado con el aspecto cardiovascular y su capacidad de inhibición de la adición plaquetaria y su actividad antiinflamatoria. ⁽¹⁵⁾

Por otro lado, se explicó la aparición de secoisolariciresinol (en la semilla de arándano) a una concentración de 10,54 mg/kg con relación al peso seco. Los lignanos posee una organización vinculada con los estrógenos, por ello, su comportamiento es muy parecido a los estrógenos débiles y antagonistas de estrógenos. Asimismo, tienen estas actividades: antioxidante, antimutagénica, antiviral y antitumoral. Las investigaciones experimentales realizadas en animales señalan que los factores dietéticos de protección reducen el colesterol total y el colesterol LDL. ⁽¹⁵⁾

El ácido ursólico se halla en concentraciones considerablemente alto en la piel del arándano americano y usado como un elemento del bálsamo para curar las lesiones a la piel y quemaduras. Las investigaciones experimentales en personas y animales han confirmado que el ácido ursólico y otros triterpenos tienen actividades biológicas relevantes, en las que se encuentra la hepatoprotectora, antiinflamatoria, antitumoral, antihiperlipidémica, antimicrobiana, anticarcinogénica y antiulcerosa. ⁽¹⁵⁾

Por último, el aceite de la semilla del arándano americano se aisló y detectaron tocotrienoles y ácidos grasos omega-3, grupos de compuestos que destacan por su actividad antioxidante, y su resultado sobre la carcinogénesis y la salud cardiovascular. ⁽¹⁵⁾

Variabilidad de la composición

La composición química del arándano americano y de sus respectivos derivados no es estático, debido a vario de sus factores, entre ellos destaca: la maduración, el ambiente, forma de cultivo, variedad y el efecto del procesado. Es decir, si el contenido total (medio) de antocianósidos del fruto del arándano americano cosechado cambia notablemente: de 31 a 62 con relación a la región, de 18 a 66 según la variedad y de 36 a 42 en de acuerdo con el año. La despectinización tiene altas probabilidades de dañar al ácido galacturónico del zumo de arándano americano y otros. ⁽¹⁵⁾

2.2.2 *Candida albicans*

2.2.2.1 Morfología

Candida albicans es un microorganismo de una sola célula. Esta se manifiesta en levadura cuando está en estado saprofito. Mide de dos a cuatro micras. Además, posee finas paredes. De otro lado, cuando está en forma de un parásito tiene 16 filamentos, sus extremos son de forma redonda que miden desde tres a cinco micras de diámetro, de otro lado, la medición de su longitud no es estable. A pesar de su brote, esta no se aparta de su célula madre, tomando una forma cilíndrica. ⁽¹⁶⁾

Comúnmente, la estructura microscópica tubular determina la formación filamentosa de los hongos. Las células levaduriformes o blastosporas son microorganismos eucarióticos, estas se reproducen asexualmente, a través de la gemación. ⁽¹⁶⁾

La división genera la producción de nuevo material celular descendiente de la zona superficial de la blastospora. Luego de que la yema llega a su tamaño común, se produce la división de la célula, lo que genera un tabique entre las 2 células. Además, la forma de todas las especies de *Candida* es muy parecida. Cabe destacar que, la totalidad de levaduras son Gram positivas, no obstante, a veces las blastosporas puede ser de forma ovoide o esférica. Además, la *C. albicans* presenta deformaciones, producto de la transformación de las levaduras a hifas. ⁽¹⁶⁾

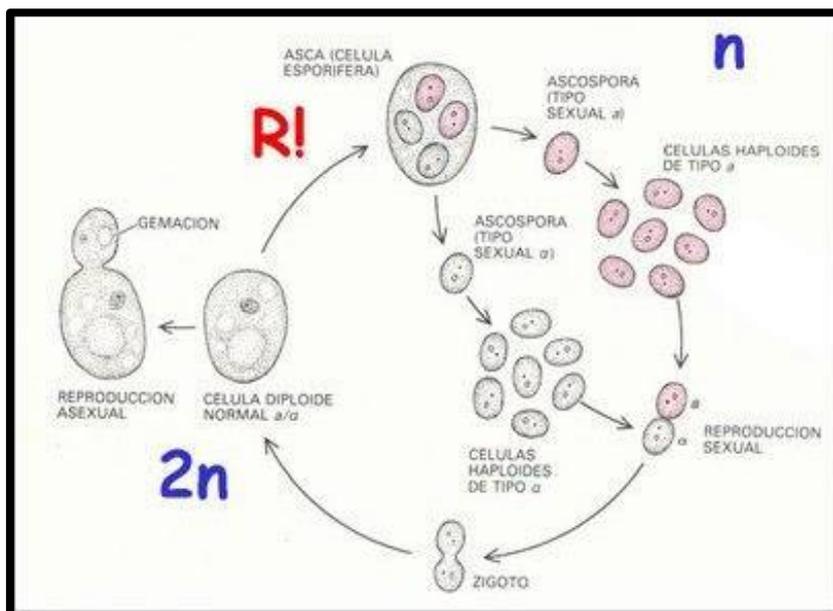
2.2.2.2 Ciclo de vida

Las esporas son muy importantes para que el hongo pueda sobrevivir ya que por diferentes factores sobreviven a situaciones a condiciones ambientales, nivel bajo de nutrientes y extremas temperaturas. Es por la formación de esporas que se da la reproducción del hongo (células consiguientes a la expansión de la especie a distancia). Figura. 6 se puede visualizar la nutrición de los hongos. ⁽¹⁶⁾

La reproducción del hongo involucra la combinación de núcleos relacionados entre sí. Las especies *homotálicas* se autofecundan, generando la expansión de gametos en el mismo micelio ⁽¹⁷⁾. Las especies *heterotálicas* necesitan que el proceso de cruce sea realizado por distintos micelios. Es necesario que los micelios tengan compatibilidad sexual para la propagación de esporas. Debido a su tamaño pequeño y su peso liviano, estos pueden estar en el aire por mucho tiempo, por lo tanto, la expansión de los hongos tiene un nivel alto, en relación con otros microorganismos ⁽¹⁷⁾

En resumen, los hongos son reproducidos, a través de los procedimientos asexuales. La gran variedad de forma, tamaño, coloración son elementales para detectar las diferentes clases de especies de hongos. Este proceso está representado en la siguiente figura. ⁽¹⁷⁾

Figura 6. Ciclo de vida de hongo *Candida*



Fuente: Masia M. "Factores determinantes de la colonización e infección por especies de *Candida* resistentes al fluconazol en pacientes con infección por VIH". (17)

2.2.2.3 Patogénesis de candidiasis

La *Candidiasis* es una enfermedad primaria o secundaria y sus revelaciones clínicas puede variar, es decir, el cambio de una situación aguda a crónica es rápida. La candidiasis se manifiesta en diferentes partes del cuerpo, tales como: manos, garganta, boca, vagina, pulmón, bronquios, piel, incluso puede generalizarse. Las características de contraer candidiasis son diversas, pueden ser: inflamación, supuración e irritación. (31)

La *candidiasis* oral es origen oportunista. La presencia de este hongo está presente de un veinte por ciento a sesenta por ciento en personas saludables. La presencia del comensal inocuo a parasitario dañino está en función de diversos elementos, cabe señalar que, la más relevante es el estado de salud del individuo. (31)

A medida que han pasado los años el interés sobre esta patología ha ido aumentando y en general para infecciones ocasionadas por los hongos (*Candida*) en individuos inmunosuprimidos médicamente comprometidos. Producto de esta situación se realizaron múltiples estudios sobre la detección de ***Candida albicans***, como el causante primordial de la *candidiasis* y como ahora se está elaborando. ⁽³¹⁾

2.2.2.4 Epidemiología

Su alto índice de personas con *candidiasis* y el elevado costo para el tratamiento, especialmente en infecciones nosocomiales, hace que esta patología sea de gran importancia. Asimismo, va en aumento, especialmente en personas comprometidos inmunológicamente. ⁽¹⁶⁾

La *candidiasis* es una enfermedad que tiene una distribución geográfica universal, la que la convierte en la micosis con mayor número de incidencias. La ***Candida albicans*** es la causante de más de setenta por ciento de esta infección. Esta patología (sistémica) implica infecciones con un nivel alto de mortalidad, esta ha aumentado significativamente a lo largo de los años. Cabe señalar que, la levadura del género *Candida* ocupa el cuarto puesto en las causas nosocomial más usuales en infecciones del torrente sanguíneo, provocando el 10% de infecciones sanguíneas y el 25 % del tracto urinario. ⁽¹⁶⁾

Con todo ello se puede decir que la ***C. albicans***, es el patógeno humano más relevante del *Candida*. Esta es una levadura que se hospeda en la mucosa oral, gastrointestinal y vaginal de personas saludables. Las personas que están infectado con el VIH están más propensas a contraer estas infecciones. ⁽¹⁶⁾

2.2.2.5 Diagnóstico

Las distintas especies de *Candida* forman parte de la flora de la piel sana y de los aparatos gastrointestinal y genitourinario; en condiciones de inmunodepresión, existe riesgo de presentar una infección por este agente. La especie que provoca infecciones más comúnmente es ***Candida albicans***, especialmente en personas con factores de predisposición, como diabetes, otras alteraciones endocrinas, obesidad, embarazo, infección por VIH, higiene deficiente y tratamiento reciente con antibióticos o corticoides, así como el uso de prótesis dentales, que predispone a la candidiasis bucal. ⁽¹⁶⁾

Para realizar un adecuado diagnóstico de *Candidiasis* es de vital importancia que el tomado de muestra sea óptimo, estas pueden ser extraídas de la piel, uña, sangre, mucosas o el líquido cefalorraquídeo de acuerdo con el diagnóstico que se requiera realizar. ⁽¹⁶⁾

Al igual que otras infecciones micóticas, los síntomas de la *candidiasis* son muy parecidos. Por ello, para el diagnóstico es vital conocer el historial clínico y la realización de un examen físico. Adicional a esto se deberá realizar una prueba en el laboratorio. ⁽¹⁶⁾

Es importante mencionar que, las muestras deberán ser para:

- Examen directo: orientado a la etiología de la infección.
- Cultivo: debe tener la cantidad de levadura suficiente, en caso contrario, los resultados no serán óptimos, por ende, no se podrá determinar si la causa de la infección es producto de la candidiasis. ⁽¹⁶⁾

2.2.2.6 Fármacos antifúngicos

Actualmente los fármacos que se utilizan se pueden clasificar en dos grupos: principalmente antibióticos naturales, como las equinocandinas y los polienos y como segunda opción los fármacos sintéticos, como las pirimidinas fluoradas y los azoles. Gran parte de estas infecciones son causadas externamente, se encuentran abundantes compuestos preparados para la administración tópica. Las variedades de fármacos antimicóticos son tóxicos y se requiere de estricta vigilancia médica cuando se utiliza un tratamiento sistémico. ⁽¹⁸⁾

ANTIBIÓTICOS ANTIMICÓTICOS

Anfotericina

La anfotericina B es una combinación de sustancias antimicóticas adquiridos de cultivos de *Streptomyces*. Estructuralmente, se trata de moléculas muy grandes (macrólido) que se incorporan dentro del grupo polieno de antimicóticos. ⁽¹⁸⁾

Igual que ocurre con otros antibióticos de tipo polienico, el lugar de acción de la anfotericina son las membranas celulares de los hongos. Su propiedad más importante es formar grandes poros en la membrana. La anfotericina posee una acción selectiva, porque se une con avidez a las membranas de los hongos y algunos protozoos, con menos avidez a las células de los mamíferos, y no se une a las bacterias. ⁽¹⁸⁾

La relativa especificidad por los hongos puede deberse a la mayor afinidad del fármaco por el ergosterol (el esteroles de la membrana micótica) que por el colesterol, el principal esteroles de la membrana plasmática de las células animales. Este actúa frente a la mayoría de levaduras y hongos, y se puede utilizar como tratamiento selectivo para infecciones diseminadas por muchos gérmenes, como *Candidas* y *Aspergillus*. ⁽¹⁸⁾

Aspectos Farmacocinéticos

Se utiliza por vía oral, muy escasamente esta puede ser absorbida, se administra por esta vía en caso de micosis digestivas altas. Otra forma de aplicación es por vía tópica, pero en infecciones sistémicas se suele administrar en forma de complejo con liposomas u otros preparados que contienen lípidos mediante una inyección lenta. De esta forma se reducen los efectos adversos. ⁽¹⁸⁾

Efectos adversos

Uno de los efectos adversos más graves es la toxicidad renal en más del 80 % de los pacientes que son medicados con dicho fármaco, la alteración de las funciones hepática y la trombocitopenia son otros de los efectos adversos que realiza la anfotericina. ⁽⁴³⁾

Griseofulvina

La griseofulvina es un antifúngico de espectro reducido que se aísla de cultivos de *Penicillium, Griseofulvum*. Interrumpe en la mitosis uniéndose a los microtúbulos del hongo. Se puede emplear para tratar dermatofitosis de la piel o las uñas cuando fracasa el tratamiento local, pero el tratamiento debe ser muy prolongado. Ha sido cambiada en gran medida por otros fármacos. ⁽⁴³⁾

Aspectos Farmacocinéticos

La griseofulvina se administra por vía oral. Su absorción varía por el tipo de formulación y es poco hidrosoluble, en particular con la medida de las partículas. La piel recién constituida tiende a captar de manera selectiva y se concentra en la queratina. La semi vida plasmática es de 24 h, pero se retiene en la piel durante mucho más tiempo. ⁽⁴³⁾

Efectos adversos

La griseofulvina tiene efectos muy infrecuentes, pero podría originar cefalea, y fotosensibilidad. Puede producir reacciones alérgicas (fiebre, erupciones). No debe administrar a mujeres que estén en gestación. ⁽⁴³⁾

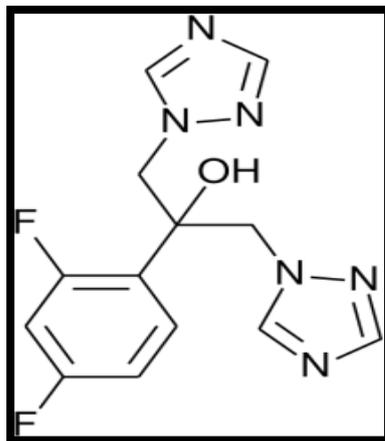
ANTIMICOTICOS SINTETICOS

Azoles

Son un grupo de fármacos micostáticos que tiene un núcleo imidazol por lo que se da su actividad debido a su amplio espectro (econazol, clotrimazol, fenticonazol, miconazol, tioconazol, ketoconazol y sulconazol) o triazol voriconazol, itraconazol y fluconazol). ⁽⁴³⁾

Estos inhiben la enzima 3 A del citocromo P450 micótico (CYP3A), la responsable de convertir lanosterol en ergosterol es la lanosina 14 desmetilasa, por la pérdida de ergosterol se altera la fluidez de la membrana y esta va interferir en la acción de las enzimas. ⁽⁴³⁾

Figura 7. Estructura química del fluconazol.



Fuente. Kuklinski C. Farmacognosia estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural.edi.omega; 2000. ⁽⁴³⁾

Terbinafina

La terbinafina pertenece a un nuevo grupo de antimicóticos llamados las alilaminas. Es un antimicótico queratinofilo y muy lipófilo que es activo frente a una amplia gama de patógenos cutáneos. Su utilización es de mucha importancia en las infecciones ungueales. Su acción se realiza inhibiendo selectivamente la enzima escualeno epoxidasa, que interviene en la síntesis de ergosterol a partir del escualeno de la pared de la célula micótica. La acumulación de escualeno en el interior de la célula es toxica para el microorganismo. ⁽⁴³⁾

2.2.2.7 Tratamiento General

El tratamiento usado para esta enfermedad dependerá mucho de múltiples elementos, tales como: lugar de la infección (sistemática o superficial), especie, sensibilidad a los diversos antifúngicos (polienos, azoles, triazoles, etc). La detección en el laboratorio, en algunos casos, suele ser lenta. Para el tratamiento inicial es necesario el uso de antifúngicos de gran espectro, de esta manera se identificará al agente causal real. Para determinar la identificación de *candidiasis* es vital que se desarrolle a nivel de especie, puesto que los resultados serán usados para el tratamiento y en la epidemiología. Es decir, ***C. albicans*** puede ser sensible a azoles, mientras que en el caso de *C. glabrata* es resistente a estos antifúngicos principalmente al Fluconazol. ⁽²¹⁾

TABLA 6. Algunas infecciones frecuentes por hongos y su sensibilidad frente a los distintos antimicóticos

Microorganismo Enfermedades principales		Tratamiento más frecuente					
		Polienos	Equino- candinas	Azoles / Triazoles	Fluci- tosina	Griseo- fulvina	Terbi- nafina
Levaduras							
<i>Cryptococcus neoformans</i>	Meningitis	+++	-	+	+	-	-
Hongos levaduriformes							
<i>Candida albicans</i>	Muguet , candidiasis sistémica	++	raramente	++	-	-	-
Hongos filamentosos							
Especies de <i>Trichophyton</i> <i>Epidermophyton floccosum</i> Especies de <i>Microsporum</i>	Todos estos gémenes pueden causar infecciones de la piel y las uñas , que se suelen llamar tiñas	-	-	+++	-	+++	+++
<i>Aspergillus fumigatus</i>	Aspergilosis pulmonar	++	+	+	-	-	-
Hongos dimorficos							
<i>Histoplasma capsulatum</i>	Histoplasmosis	++	-	++	-	-	-
Coccidioides immitis	Coccidioidomicosis	++	-	++	-	-	-
<i>Blastomyces dermatitides</i>	Blastomicosis	++	-	+	-	-	-

Fuente: Kuklinski C. "Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural". (43)

Tratamiento para candidiasis orofaríngea en las personas con infección por el VIH

Dada la relevancia en los casos de Micosis en la actualidad se están desarrollando nuevos fármacos, en cuanto a toxicidad y comodidad de administración. Esto debido a que encontramos diferentes casos de *candidiasis* y el aumento en el uso de los antifúngicos clásicos, como la anfotericina B, estos nuevos fármacos cuyas ventajas frente a los

anteriores fármacos, tuvieron implicaciones importantes para el manejo de estas enfermedades. ⁽²²⁾

En la mayoría de los pacientes el tratamiento inicial o a los que estos responden mejor son a los agentes tópicos, polienos, como la nistatina o la anfotericina B, e imidazoles como el clotrimazol. No obstante, en las personas infectadas con el virus del VIH, las reacciones de mejorar no son duraderos, por ende, las recaídas son usuales. Debido a la necesidad de administración frecuente, a las complicaciones gastrointestinales que se producen y a su mal sabor aumenta el índice de los fracasos al tratamiento, esto se debe a la inmunodeficiencia subyacente y nivel bajo de adherencia al mismo tratamiento. ⁽²²⁾

Esta problemática originó que los fármacos fueran reemplazados por los antifúngicos sistémicos para el primer tratamiento. Los antifúngicos más usados son los azólicos. Entre los 80 y los 90 ha sido muy importante el uso del grupo de los azoles. El tratamiento inmediato para la *candidiasis* oral es preceptivo, no solo por la sintomatología ocasionada por las lesiones, sino porque estas significan un reservorio de microorganismos para la diseminación local de la infección. ⁽²²⁾

Uno de los medicamentos usados para esta enfermedad es el ketoconazol oral, administrado en dosis de 200 a 400 mg al día. Es recomendable la administración del fármaco conjunta con alimentos, por lo que el ácido gástrico es imprescindible para su disolución y absorción. Este fármaco presenta en diversos Rams, como náuseas, exantema, prurito y hepatitis ⁽²²⁾.

El ketoconazol en el organismo humano hace que frecuentemente ocurran alteración en los parámetros de función hepática, por ello es recomendable controlar los índices de transaminasas, con frecuencia, en las personas tratadas con este medicamento.

En los inicios de esta patología se usó el ketoconazol, cuya efectividad fue notoria en el tratamiento de la *candidiasis mucocutánea* crónica y en las infecciones por *Candida* en otras personas con VIH ⁽²²⁾.

A medida que paso el tiempo se desarrollaron otros fármacos como los del grupo de los bis-triazoles, el itraconazol el representante de este grupo y más aún el fluconazol, cuyas ventajas fueron farmacocinética muy buenos cumplieron la expectativa obteniendo resultados óptimos y con respecto a la efectividad *in vivo* lo convirtieron en el antifúngico para el tratamiento de la *candidiasis* oral en los pacientes infectados con VIH y gracias a ello se convirtió en el fármaco azólico más usual, debido al aumento de esta enfermedad, cabe destacar que también es utilizado en personas con VIH. ⁽²²⁾

2.2.2.8 Factores de riesgo

Son 2 los factores de riesgo principales responsables de este problema inmunitario: causa natural y origen iatrogénico. Este hongo huésped del ser humano, para ser convertido en patógeno, requiere de la indispensable presencia de interrupción de los mecanismos usuales de defensa y es ahí cuando el huésped está indefenso esta enfermedad aprovecha y se desencadena la enfermedad en su máxima expresión. ⁽²⁴⁾

La *Candida* en diversos estudios de investigación ha demostrado la capacidad de adherirse con facilidad a la fibronectina, coágulos de fibrina plaquetaria, al acrílico, al endotelio a los linfocitos, a las células del aparato femenino (vagina), del aparato digestivo y de la boca. Las personas que padecen de diabetes mellitus tienen grandes posibilidades de contraer la candidiasis cutánea. No obstante, esta se da manera dispersa. ⁽¹⁸⁾

El factor de origen iatrogénico es predisponente de la infección por *Candida*, especialmente a la *candidiasis* diseminada, los avances tecnológicos y posteriores estudios sobre este problema de salud se han

venido desarrollando en las últimas décadas para prolongar y mejorar la calidad de vida de los pacientes. La *Candida* es una de principales causas del aumento de las infecciones fúngicas sistémicas y conllevado que otro tipo de *Candida* se desarrolle estamos hablando de *Candida sp*, normalmente saprofito del tracto digestivo del huésped, este se convierte en un patógeno con la capacidad de invadir. ⁽¹⁸⁾

En caso de los pacientes hospitalizados son muy comunes la aparición de estas enfermedades de *candidiasis* e incluso para este ámbito hospitalario hay mayor incidencia gracias a los factores que uno encuentra al estar hospitalizado. Numerosas investigaciones detectaron varios factores de riesgo que aumentan las posibilidades de que el paciente tenga una infección fúngica oportunista ⁽²⁶⁾. Los pacientes cuyos tratamientos prolongados se basan en antibióticos de amplio espectro están en mayor riesgo, estos medicamentos son fuertes tanto que eliminan la flora bacteriana estándar, lo que origina la propagación del hongo, y otro factor para los pacientes hospitalizados es la utilización estandarizado de los catéteres intravenosos permanentes. ⁽²⁶⁾

La *candidiasis* sistémica se manifiesta con mayor frecuencia en pacientes quirúrgicos ya que esta condición es un factor importante para su aparición, entre ellos pacientes a quienes se le realizó una cirugía abdominal mayor, sobre todo en aquellos a quienes se le realiza cirugía de urgencias, al colon, páncreas, peritonitis graves postoperatoria todo ello vinculado con dehiscencias de anastomosis y fallos de sutura que conllevan a la aparición de esta enfermedad ⁽²⁶⁾.

Para los pacientes ingresados en UCIs, la *candidemia* perturba, en primera instancia, a personas inmunocomprometidos, es decir, que padecen de cáncer o enfermedades hematológicas malignas y que están bajo tratamiento con quimioterapia y quienes consumen drogas inmunosupresoras como son los trasplantados. Asimismo, los pacientes que recibieron trasplante de órganos (hígado, corazón y pulmón) son los

más propensos a contraer la enfermedad, de otro lado, las personas que recibieron trasplante renal disminuyeron significativamente la aparición de la *candidiasis* diseminada ⁽²⁶⁾.

Los pacientes que están acaparando vital importancia e interés son los pacientes politraumatizados y quemados. En ellos existe predomina la alteración casi total en la respuesta inflamatoria e inmunidad. Además, aparecen varios factores que favorecen la aparición de la *candidiasis*, por ello la prevención es vital. ⁽²⁶⁾

2.2.2.9 Profilaxis

Para la *candidiasis* la profilaxis ha sido confusa. No obstante, en los receptores de trasplante alogénico de médula ósea, las pruebas eventuales han dado buenos resultados. Los estudios e investigaciones científicas que no se vienen controlando en su totalidad, se está empleado tratamiento con fluconazol en el trasplante autólogo de médula ósea de alto riesgo y en el trasplante hepático.

Se evidenció que, en pacientes leucémicos, el tratamiento con nistatina o ketoconazol por vía oral no está vinculado con el descenso apreciable de la incidencia de *candidiasis* sistémica ⁽²⁷⁾.

Las pruebas controladas llevada a cabo en pacientes con leucemia y neutropenia no pudieron manifestaron un reacción favorable producto de la profilaxis con fluconazol. El fluconazol y el ketoconazol demostraron farmacocineticamente ser eficientes para la prevención de las infecciones de *candidiasis* orales en pacientes oncológicos y en personas con SIDA. Cabe señalar que la profilaxis con fluconazol no tiene actividad ante los mohos. ⁽²⁸⁾.

Muchos especialistas no la recomiendan. En un estudio realizado en una UCI quirúrgica de un hospital, en Baltimore, determinó que la incidencia

de *candidemia* descendía en el periodo póstumo a la utilización constante de profilaxis con fluconazol. ⁽²⁸⁾

La profilaxis extendida al uso de azoles, disminuye la colonización de *Candida* y la posibilidad del surgimiento de la *candidemia*, no obstante, tiene, en parte, responsabilidad de la proliferación de aislamientos de *C. no albicans* resistentes a antifúngicos, especialmente *C. glabrata* y *C. krusei*. Por lo tanto, es importante que la preparación ante situaciones que impliquen riesgo de inducción de resistencias a los azoles en las cepas de *Candida* de las que son portadores la mayor parte de estos pacientes. ⁽²⁸⁾

La falta de profilaxis con fluconazol en personas con enfermedades malignas hematológicas es un predictor de fungemia por *C. tropicalis* en estos pacientes. Podríamos asegurar después de nuestro estudio que la profilaxis con fluconazol ha disminuido la periodicidad de *candidemia* por *C. tropicalis*. ⁽²⁹⁾

Causa vital interés e importancia para los pacientes, a quienes se les realizó la profilaxis con fluconazol, puesto que los índices de infecciones fúngicas resistentes son muy elevados, mientras que la terapia antifúngica empírica tiene resultados poco eficientes. Con respecto a los pacientes que poseen un nivel alto de riesgo de contraer infecciones fúngicas, debido a los trasplantes de médula ósea, la profilaxis antifúngica ha tenido una respuesta mucho más favorable que el tratamiento de prevención después de que la enfermedad sea detectada. En función a este estudio, la profilaxis con fluconazol disminuye la infección producida por *C. albicans* y aumenta la calidad de vida luego del trasplante con célula stem hematopoyética, disminuye la infección y la colonización. Pero tener especial cuidado ya que el uso rutinario de profilaxis con fluconazol causa resistencia a otras infecciones. Por ello, es recomendable no utilizar el fluconazol en pacientes con escaso riesgo de contraer *candidemia*. ⁽²⁹⁾

2.3 FORMULACIÓN DE LA HIPÓTESIS

2.3.1 Hipótesis general

El extracto etanólico de *Vaccinium corymbosum L.* (arándanos) posee efectos antimicóticos “in vitro” en cepas de *Candida albicans*.

2.3.2 Hipótesis específicas

1: El extracto etanólico de *Vaccinium corymbosum L.* (arándanos) contiene tipos de metabolitos secundarios relacionados con el efecto antimicótico.

2: El extracto etanólico de *Vaccinium corymbosum L.* (arándanos) tiene efectos antimicóticos in vitro frente a cepas de *Candida albicans* a diferentes concentraciones.

3: El extracto etanólico de *Vaccinium corymbosum L.* (arándanos) tiene mejor efecto antimicótico que el Fluconazol frente a cepas de *Cándida albicans* en estudio in vitro.

2.4 VARIABLES

2.4.1 TABLA 7. Operacionalización de variables

Variables	Definición conceptual	Definición Operacional	Indicador	Tipo de variable	
				Según su naturaleza	Según su función
V. I.: Extracto etanólico de <i>Vaccinium corymbosum</i> L.	El extracto se efectuó mediante el fruto de la planta, el cual tuvo los siguientes procesos, trituración, filtración, maceración, filtración y secado.	Extracto obtenido por un procedimiento de maceración, el que se usará para obtener soluciones a distintas concentraciones.	Concentración al: 50 % 75 % 100 %	Cuantitativa	Independiente
V. D.: Efecto antimicótico ante <i>Candida albicans</i>	Es un procedimiento que tiene como objetivo medir la eficacia y el poder antifúngico frente a las cepas de estudio.	Sensibilidad antifúngica Susceptibilidad de las levaduras cuando están en un medio que contiene al extracto vegetal en estudio, manifestándose alrededor del disco un halo de inhibición.	-Diámetro de halos de inhibición expresada en (mm).	Cuantitativo	Dependiente

2.5 MARCO CONCEPTUAL

Cultivares

Se les denomina de esta manera a las plantas que fueron escogidas, de manera artificial, a través de diferentes métodos. El objetivo principal es la fijación de caracteres, los cuales deben permanecer durante su reproducción. ⁽³²⁾

Especie

Es un conjunto de organismos diverso a otro grupo. Asimismo, considerada como la unidad más pequeña de clasificación de animales y plantas. ⁽³³⁾

Género

Es el grupo de especies parecidas. Además, sus semejanzas no solo son están vinculadas con su aspecto morfológico, sino también con otras características. ⁽³⁴⁾

Highbush

Es un arbusto alto, considera a todas las especies de arándanos. La altura de este arbusto varía entre 1,5 a 7,0 metros. ⁽¹³⁾

Lobush

Considera a las especies de arándanos que tiene una altura menor a un metro. ⁽¹³⁾

Bioactivo

Es una clase de sustancia química que yace en las plantas y algunos alimentos (frutas, aceites, verduras). El bioactivo ayuda a fomentar una salud de calidad. ⁽³⁴⁾

Fruto

Es el órgano que pertenece a la flor, este posee semillas hasta su maduración. Además, forma parte reproducción. ⁽³²⁾

Extracto etanólico

Es una sustancia natural que tiene un olor particular producto de la materia prima de origen vegetal, a través de procesos físicos permanente como: la desecación, pulverización, maceración en etanol, percolación, filtración y secado. ⁽⁴⁰⁾

Nutraceuticos

Es un alimento que posee beneficios para la salud, es decir, contribuye a la prevención y el tratamiento de las enfermedades. ⁽³⁵⁾

Brix

La denominada graduación Brix se refiere a la medida de concentración del zumo o porcentaje de sólidos solubles. Este está basado en la sacarosa. Además, es medido por la hidrometría o refractómetro. ⁽¹³⁾

Oligómeros

Es la molécula conformada por unidades estructurales parecidas que se relacionan en un número moderado. Cuando la cantidad de unidades es alto se la llama polímero. ⁽³⁶⁾

Antimicótico

Se considera así, a toda composición que posee la capacidad de detener el desarrollo de algunos tipos de hongos, incluso puede producir la muerte. ⁽³⁸⁾

ATCC

Referida la marca o denominación cuyo registro se encuentran en la colección de cultivos de tipo americano. ⁽³⁷⁾

Cepas

células clones agrupadas, que son generadas por células iniciales únicas, las cuales fueron aisladas. Asimismo, son conocidas como colonias constituidas íntegramente por bacterias. ⁽³⁸⁾

Halos de Inhibición

Franja que rodea al disco, este posee sustancias antifúngicas que detiene el desarrollo de los hongos, luego de un lapso de tiempo de incubación de dieciocho a veinticuatro horas y son observados por los halos que se forman alrededor del disco. ⁽⁴¹⁾

In vitro

Procedimiento metodológico desarrollado para estudiar procesos o reacciones que sucede en un ambiente artificial fuera del organismo vivo. ⁽⁴²⁾

Marcha fitoquímica

Técnica que se realiza para reconocer los metabolitos presentes en los extractos de plantas. ⁽⁴²⁾

Medio de cultivo

Es un conjunto de nutrientes que en condiciones apropiadas permite el desarrollo de microorganismos en laboratorio. ⁽⁴²⁾

Metabolitos secundarios

Son una variedad de compuestos orgánicos que elabora la planta, pero que no tiene una función directa con su crecimiento y desarrollo. ⁽⁴²⁾

CAPITULO III

METODOLOGÍA

3.1. TIPO DE ESTUDIO

El estudio es de carácter:

Experimental: Debido a que se manipula el extracto etanólico, buscando determinar su efecto antimicótico, su procedimiento incluye un grupo para control positivo mediante Fluconazol 25ug, uno para el control negativo comprendido por solo alcohol; y un grupo experimental que corresponde al extracto etanólico de *Vaccinium corymbosum L.* (arándanos) a distintas concentraciones 50%,75%,100%.

Transversal: En tanto que el ensayo se desarrolló en un periodo de tiempo establecido y las distintas variables fueron analizadas en un solo momento de espacio de tiempo, aproximadamente 24 horas luego de realizarse el cultivo de estudio.

In vitro: En razón de que el ensayo se realizó en medios de cultivo utilizados para el crecimiento y evolución de microorganismos, así como las propiedades de la investigación serán manipuladas intencionalmente.

Prospectivo: Por que el proceso de recojo de datos se practicó en concordancia a cómo ocurrieron los acontecimientos.

Analítico: Responde a que faculta el análisis del posible componente presente en el extracto etanólico y como este influye en la actividad antimicótica.

Descriptivo: El estudio se orienta en su desarrollo a describir los resultados logrados durante la ejecución de la investigación.

Según el nivel de conocimiento científico

Aplicado: El desarrollo del estudio se sostiene en la práctica, ejecutada a través de experimentos en las cepas de cultivo de *Candida albicans*.

3.2 DISEÑO DE INVESTIGACIÓN

Responde al diseño experimental, desarrollado en tres partes:

Primera parte: Ubicación y elección de las muestras apropiadas, elaboración del extracto, determinación de las concentraciones y preparación de la cepa del experimento).

Segunda parte: Realización del análisis químico cualitativo, a partir de las muestras de extracto etanólico del fruto de *Vaccinium corymbosum L.*

Tercera parte: determinación de la sensibilidad antifúngica de las muestras.

La investigación se realizó con medios de cultivo y cepas ATCC (American Type Culture Collection) y especie botánica con acción terapéutica.

Para la obtención de datos, utilizamos un documento elaborado en el que se registraron los datos obtenidos mediante la medida de los halos con el vernier, así como la observación de la turbidez de las diversas concentraciones.

La elaboración y preparación del extracto, marcha fitoquímica, prueba de solubilidad, fueron realizadas en los ambientes del Laboratorio de la facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, con la participación de especialistas en el área de la fisicoquímica, así como el trabajo microbiológico fue realizado también en estos laboratorios, con la concurrencia de profesionales en el campo de la microbiología (Anexos 6,7,8)

3.3 POBLACIÓN

Botánica

La población está compuesta por 1 kg de frutos frescos de *Vaccinium corymbosum* L. (arándanos) que fueron colectados del fundo Túnel Grande, Provincia de cañete - Departamento de Lima, en el mes de Julio del 2018.

Microbiológica

La población está compuesta por la Cepa de *Candida albicans* con número **ATCC 10231** adquiridas en la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

3.4 MUESTRA

Botánica

La muestra está compuesta por 300 gr. de frutos de *Vaccinium corymbosum* L. (arándanos)

Microbiológica

La muestra está compuesta por la Cepa de *Candida albicans* con número **ATTC®10231**.

3.5. TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Técnica.- La recolección de datos del ensayo, corresponde a la técnica de la observación, utilizada para cada uno de los procesos del experimento.

Instrumento.- Se elaboró una ficha ad hoc utilizada como fichas de observación participante, donde se registraron todos los datos obtenidos durante el desarrollo del procedimiento experimental, permitiendo la anotación detallada de todos los hallazgos que conduzcan a la obtención de los objetivos propuestos en el estudio. Así mismo se complementó la información con la recopilación de testimonios fotográficos como pruebas gráficas de los procesos realizados. (Ver Anexo 6, 7,8)

3.6. PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE DATOS

Para el procesamiento de los datos obtenidos se utilizaron los programas Word, Excel y el programa estadístico SPSS, versión 22 para Windows.

Materiales para la recolección y procesamiento de datos

Fichas de recolección de datos y lápices

Programa estadístico SPSS versión 22 para Windows

Computadoras

Laptops

3.7 EQUIPOS, MATERIALES Y REACTIVOS

TABLA 8. Material de vidrio y otros

Material	Usos
Frasco ambar	Para maceración de las muestras
Pipetas	Se utilizó en el screening fitoquímico
Baquetas	Se usó en la prueba de solubilidad
Embudo de vidrio	Para filtrar el macerado
Placas Petri	Para realizar el secado de la muestra líquida
Fiola	Para realizar diluciones
Tubos de ensayo	Para el screening y otros
Frascos estériles	Para guardar las muestras diluidas
Capilares	Para realizar el sembrado
Navajas	Para cortar
Papel filtro	Para filtrar el macerado
Gasa	Para realizar el primer filtro
Luna de reloj	Para realizar el secado en el screening
Tijeras	Para selección y cortar
Pipetas de plástico	Para cada reactivo
Jeringa	Para extraer las muestras
Matraz Erkenmeyer	Para las diluciones
Piseta	Para el lavado de material

TABLA 9. Equipo e instrumentos

Equipos	Usos
Balanza analítica METTLEP TOLEDO-XP205DR	Se realizó el peso de la materia prima, peso del extracto seco.
Rota vapor - BUCHI	Para eliminar el agua y del alcohol macerado.
Cocinilla eléctrica	Se usó en el Screening Fitoquímico
Campana de extracción FRONTIER	Para evitar los peligros de los solventes y reactivos de laboratorio
Estufa DIGISYSTEM –DSI 3000	Para realizar el secado de las placas con muestras semisólidas.

TABLA 10. Reactivos

REACTIVOS	
1.	Reactivo de Mayer
2.	Reactivo de Wagner
3.	Reactivo de Dragendorf
4.	H ₂ SO ₄ 10%.
5.	Reactivo de Bajlet
6.	Reactivo de Shinoda
7.	Reactivo de Nihidrina.
8.	Reactivo de Kedde.
9.	Reactivo de Liebermann – Burchard.
10.	Reactivo de Espuma
11.	Cloruro férrico
12.	Reactivo de Liebermann – Burchard
13.	Reactivo de Fehling
14.	Alcohol de 96°C
15.	Agua destilada

3.8 PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

Material biológico

Constituido por 300g de frutos maduros *Vaccinium corymbosum L.* (arándanos) colectados del fundo Túnel Grande, Provincia de cañete - Departamento de Lima, en el mes de Julio del 2018.

Cultivos de ***Cándida albicans* ATCC 10231**, proporcionados por el laboratorio de Microbiología de UNMSM.

Recolección y tratamiento de los frutos de *Vaccinium corymbosum* L.

Los frutos de arándanos fueron cortados de forma manual, luego guardados en contenedores plásticos y transportados a Lima. (Anexo 7, Fig. a), para seguidamente ser conducidos a los laboratorios correspondientes. A continuación, se practicó un lavado con agua y además desinfectados con el uso de la solución de hipoclorito de sodio al 0,1% durante 3 min. Luego se procedió a otro lavado con agua destilada estéril, con el fin de eliminar el olor característico del hipoclorito de sodio.

Obtención del extracto de *Vaccinium corymbosum* L.

La preparación del extracto etanólico de arándanos se realizó por el método de maceración, donde en un recipiente de vidrio ámbar de boca ancha capacidad 1 litro, se colocaron los 300 g de arándanos previamente lavados para eliminar posibles contaminantes y desinfecto con solución de hipoclorito al 0.1% y se enjuago con agua destilada, se procedió a retirar la cascara con una cuchilla para posteriormente proceder con la trituración mediante un mortero. Luego se añadió de 600 mL de alcohol etílico al 96°. Se dejó en reposo por 10 días con agitación periódica de 10 minutos cada 12 horas. Culminado el tiempo de maceración, se filtró la solución. Al líquido filtrado se le llamó extracto etanólico finalmente, el extracto se colocó en unas placas Petri y se llevó a la estufa para luego concentrar la muestra en una estufa de aire circulante a 40 °C; hasta obtener extracto seco. Para realizar la marcha fitoquímica y el análisis microbiológico se tuvieron que reconstituir el extracto seco. (Anexo 7, Fig. b, c, d, e, f, g).

Preparación de las concentraciones de *Vaccinium corymbosum* L

La muestra se encontraba en forma de extracto alcohólico. Se preparó diluciones al 100%, 75%, y 50% con etanol 96°. Las muestras fueron diluidas en viales de 5 mL de capacidad y se prepararon de la siguiente manera:

Muestra al 100%, se tomó 5 mL del extracto original en un vial.

Muestra al 75%, se tomó 3.75 mL del extracto original en un vial y se agregó 1.25 mL de etanol.

Muestra al 50%, se tomó 2.5 mL del extracto original en un vial y se agregó 2.5 mL de etanol. (Anexo 8), los que también fueron depositados en frascos ámbar, y puestos en refrigeración hasta su posterior evaluación.

Marcha Fotoquímica de Metabolitos secundarios de *Vaccinium corymbosum* L. (Arándanos) (Anexo 6)

Se determinaron los metabolitos secundarios que se encuentran en la muestra de una forma cualitativa.

Se utilizó 28 tubos de ensayo a los que se agregaron 3 gotas del extracto etanólico y 2 gotas del reactivo correspondiente.

a) Identificación de Antocianinas

Se agregó el reactivo de H₂SO₄ 10% al tubo de ensayo que contiene la muestra dando un color rojizo indicando una reacción positiva.

b) Identificación de Alcaloides

Reacción de Dragendorff: se observó una precipitación que trascurre del color naranja al rojo, teniendo como resultado una reacción positiva.

Reacción de Mayer: se debería formar un precipitado de blanco, reacción positiva. En nuestro proceso se vio un cambio de color que también demuestra reacción positiva.

Reacción de Wagner: se debe observar un precipitado de color marrón indicando una reacción positiva.

c) Identificación de Lactonas

Se agrega el reactivo de Baljet al tubo de ensayo que contiene la muestra dando la formación de un color verdusco indicando una reacción positiva

d) Identificación de Flavonoides

Con reactivo de Shinoda. Se agrega una limadura de Magnesio y 2 gotas de HCl concentrado al tubo de ensayo que contiene la muestra, surge un burbujeo producto de la reacción de las limaduras y la solución se torna de color naranja hasta un color rojo indicando una reacción positiva.

e) Identificación de Aminoácidos

Se agregó el reactivo de Ninhidrina al tubo de ensayo que contiene la muestra dando la formación de un color lila indicando una reacción positiva.

f) Identificación de Esteroides

Se agregó el reactivo de Lieberman al tubo de ensayo que contiene la muestra, no produce cambios en la muestra dando una reacción negativa.

g) Identificación de saponinas

Reacción de formación de espuma, se le agrego 1ml de H₂O a la muestra y se agito por unos 2min dando una reacción negativa.

h) Identificación de Taninos

Se agregó el reactivo de Cloruro férrico a la muestra dando una reacción negativa.

i) Identificación de triterpenos

Se realizó la reacción Liebermann – Burchard agregando el reactivo a la muestra, una reacción positiva daría un color rojizo.

j) Identificación de azucares

En un tubo de ensayo se colocó la muestra, seguidamente se añadió 5 gotas del reactivo Fehling A, sumados a 5 gotas del reactivo Fehling B, se agitaron, y luego llevados a baño maría por espacio de 10 minutos, un precipitado de color anaranjado rojizo indicaría un resultado positivo.

k) Identificación de compuestos fenólicos

La muestra fue colocada en un tubo de ensayo a la que se añadió 5 gotas del reactivo de cloruro férrico al 5 %, el cambio de coloración de pardo a azul indica un resultado positivo.

Prueba de solubilidad

En una placa de tinción de porcelana se colocó una pequeña porción del extracto seco de *Vaccinium corymbosum L.* (arándanos) de la siguiente manera:

Se tomó una alícuota del extracto seco de *Vaccinium corymbosum L.*, luego se agregó 0.25mL de etanol.

Se tomó una alícuota del extracto seco de *Vaccinium corymbosum L.*, luego se agregó 0.25mL de metanol.

Se tomó una alícuota del extracto seco de *Vaccinium corymbosum L.*, luego se agregó 1mL de cloroformo.

Se tomó una alícuota del extracto seco de *Vaccinium corymbosum L.*, luego se agregó 1mL de agua.

Se tomó una alícuota del extracto seco de *Vaccinium corymbosum L.*, luego se agregó 1mL de DMSO. (Anexo 7 Fig.h)

Determinación del efecto del extracto de *Vaccinium corymbosum L.* sobre *Cándida albicans.* (Anexo 8)

Preparación de las concentraciones de *V. corymbosum*

La muestra se encontraba en forma de extracto alcohólico. Se preparó diluciones al 100%, 75%, y 50% con etanol 96°. Las muestras fueron diluidas en viales de 5 mL de capacidad y se prepararon de la siguiente manera:

- Muestra al 100%, se tomó 5 mL del extracto original en un vial.
- Muestra al 75%, se tomó 3.75 mL del extracto original en un vial y se agregó 1.25 mL de etanol.
- Muestra al 50%, se tomó 2.5 mL del extracto original en un vial y se agregó 2.5 mL de etanol. (Anexo 8), los que también fueron depositados en frascos ámbar, y puestos en refrigeración hasta su posterior evaluación.

Control positivo

El control positivo se empleó discos de Fluconazol 25ug.

Control blanco

El control negativo fue con etanol 96°.

Reactivación de cultivos

La colonia debe estar en refrigeración, para luego sembrar en la superficie en agar Sabouraud. Además, fueron encubados a 25°C por 72h.

Preparación de inóculo antifúngico

Luego de que las placas de cultivo fueron encubadas por 72 horas, se recogieron las colonias. Asimismo, se formuló una suspensión antifúngica; proporcional a 1×10^8 ufc/mL en solución salina fisiológica estéril. Luego, estas fueron agitadas por treinta segundos para formar un inóculo.

Siembra en placas

Se agregó 100 uL del inóculo bacteriano preparado (1×10^8 ufc/mL) a cada una de las placas y con la ayuda de una espátula de Drigalsky se esparció el inóculo por toda la placa de tal manera que se obtenga un crecimiento homogéneo, para lo cual se desliza el asa en la placa en forma paralela y bien compacta abarcando toda la superficie de la misma. Luego se repite el procedimiento rotando la placa 60° en dos oportunidades más. Deben extremarse los cuidados en sembrar las placas de borde a borde, porque de lo contrario puede haber problemas en la

realización de las lecturas. Dejar secar 3 a 5 minutos antes de continuar con el siguiente procedimiento.

Preparación de excavaciones

Se realizaron 3 excavaciones de 6mm de diámetro en las placas de agar Sabouraud, con la ayuda de un sacabocado. Se agregó 15µL de cada concentración del extracto etanólico de ***Vaccinium corymbosum L.*** (50%, 75% y 100 %) y el control negativo (alcohol). Luego de colocados la placa debe incubarse a 25°C durante 7 días.

Aplicación de discos

Estos fueron colocados con pinza estéril. Luego de estar sobre el agar se presionó los discos levemente para que queden adheridos al mismo. Se colocaron a más de 15 mm del borde de la placa y se distribuyeron de tal manera que no haya superposición de los halos de inhibición. Los discos fueron colocados de la siguiente manera: Tres discos con fluconazol 25ug en una placa inoculada con ***Candida albicans*** de tal manera que se obtengan resultados por triplicado. Luego de colocados los discos la placa debe incubarse a 25°C durante 7 días.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS

4.1. RESULTADOS DE LA INVESTIGACIÓN

La prueba de la marcha fitoquímica practicada, en sus resultados determinó que el fruto del arándano presenta un conjunto de metabolitos secundarios tales como, antocianinas, alcaloides, lactonas, flavonoides, aminoácidos, triterpenos y azúcares reductores; metabolitos que poseerían el efecto antimicótico.

Tabla N°11. Screening Fitoquímico

METABOLITO	ENSAYO	METODOS	RESULTADOS
ANTOCIANINAS	Prueba Cualitativa	Cualitativo	++
ALCALOIDES	Reaccion de Dragendorff	Cualitativo	+
	Reaccion de Mayer	Cualitativo	+
	Reaccion de Wagner	Cualitativo	+
LACTONAS	Reaccion de Baljet	Cualitativo	+
FLAVONOIDES	Reaccion de Shinoda	Cualitativo	++
AMINOACIDOS	Reaccion de Ninhidrina	Cualitativo	+
CARDENOLIDOS	Reaccion de Kedde	Cualitativo	-
ESTEROIDES	Reaccion de Liebermann – Burchard	Cualitativo	-
SAPONINAS	Reaccion de espuma	Cualitativo	-
TANINOS	Reaccion con Cloruro Ferrico	Cualitativo	-
TRITERPENOS	Reaccion de Liebermann – Burchard	Cualitativo	++
AZUCARES REDUCTORES	Reaccion de Fehling	Cualitativo	+++

Legenda: Abundante (+++), Regular (++) , Poco (+), No presenta (-).

Fuente: Screening Fitoquimico por la Universidad Mayor de San Marcos, ver anexo 5.

Tabla N° 12. Prueba de solubilidad

1.	ETANOL	POSITIVO
2.	METANOL	POSITIVO
3.	CLOROFORMO	NEGATIVO
4.	AGUA	POSITIVO
5.	DMSO	POSITIVO

Fuente: Prueba de Solubilidad por la Universidad Mayor de San Marcos, ver anexo 4.

Lectura de resultados del extracto de arándanos

El extracto etanólico analizado de *Vaccinium corymbosum L.* presenta efecto antimicótico inhibiendo el crecimiento de *Candida albicans* en las placas petri estudiadas, a las concentraciones de 50, 75 y 100% de muestra.

Tabla N°13: Distancia inhibitoria en mm de diámetro en las concentraciones control y concentraciones experimentales

Microorganismo	CONTROLES				MUESTRA			
	HALOS DE INHIBICION (mm)				EXTRACTO ETANOLICO			
<i>Candida albicans</i> ATCC10231	FLUCONAZOL 25 ug				50%			
	18m m	17m m	17m m	17.33m m	10m m	10m m	9m m	9.67mm
					75%			
					12m m	12m m	12m m	12mm
	BLANCO				100%			
	6mm	6mm	6mm	6mm	14m m	15m m	14m m	14.33m m

Fuente: Prueba Antimicótica por la Universidad Mayor de San Marcos, ver anexo 9.

Tabla N° 14: Estadística descriptiva de los halos de inhibición encontrados en el extracto etanólico de *Vaccinium corymbosum* L (Arándanos) frente a *Candida albicans*

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
1	3	6,00	,000	,000	6,00	6,00	6	6
2	3	17,33	,577	,333	15,90	18,77	17	18
3	3	9,67	,577	,333	8,23	11,10	9	10
4	3	12,00	,000	,000	12,00	12,00	12	12
5	3	14,33	,577	,333	12,90	15,77	14	15
Total	15	11,87	4,033	1,041	9,63	14,10	6	18

Fuente: elaboración propia.

. Leyenda:

1 = Blanco

2 = Control positivo (fluconazol)

3 = Extracto etanólico al 50%

4 = Extracto etanólico al 75%

5 = Extracto etanólico al 100%

En esta tabla se puede observar los valores de los límites superior e inferior por cada tratamiento aplicado. Se observa la media o promedio por cada tratamiento, todos se encuentran dentro de los límites establecidos.

Tabla N° 15: ANOVA de un factor

	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter grupos	225,733	4	56,433	282,167	,000
Intra grupos	2,000	10	,200		
Total	227,733	14			

Fuente: elaboración propia.

Donde:

Ho = No existe diferencias significativas entre los tratamientos aplicados ($P > 0.05$)

H1 = Existe diferencias significativas entre los tratamientos aplicados ($P < 0.05$)

La prueba ANNOVA OneWay permite describir si existen diferencias significativas entre los tratamientos aplicados comparando la media de cada uno de ellos. Al observar el resultado ($P < 0.05$) se afirma la Hipótesis alternativa, es decir, existe diferencias significativas entre los tratamientos aplicados.

4.2 DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Los resultados de la prueba de la marcha fitoquímica practicada, determinó que el fruto del *Vaccinium corymbosum* (arándanos) presenta un conjunto de metabolitos secundarios tales como, azúcares reductores (+++) antocianinas (++) , flavonoides (++) , triterpenos (++) y además alcaloides (+), lactonas (+) y aminoácidos (+) ; compuestos metabólicos que poseerían el efecto antimicótico.

En este sentido **Ormozabal C. (2014)** ⁽¹⁰⁾ en su investigación: “Capacidad antioxidante de extractos secos provenientes de berries: maqui (*Aristotelia chilensis*), murtilla (*Ugni molinae*) y arándano (*Vaccinium corymbosum*)”. El autor menciona que a lo largo del tiempo y actualidad, estas plantas han sido utilizadas como alimentos funcionales y fitofármacos, debido a su propiedad antioxidante, propiedades antiinflamatorias y antibacterianas. Los resultados indicaron que los

tres extractos tuvieron una acción de prevención en la aparición de la lipoperoxidación de las microsomas, y revirtieron y previnieron la oxidación de los tioles microsómicos con diferente potencia. Todos los extractos demostraron ser capaces de quelar el ion Cu^{2+} . Por su lado, el extracto de maqui mostró mayor actividad antioxidante a comparación del extracto de arándano. El autor menciona que la calidad y cantidad de los antioxidantes presentes en los diferentes extractos sería la posible diferencia y que estos poseen la propiedad, a través de diferentes mecanismos actuando de manera sinérgica. Estos resultados estarían corroborando los datos obtenidos en la presente investigación en cuanto a la marcha fitoquímica.

De otro lado los resultados de la investigación de las concentraciones experimentales muestran la efectividad antimicótica del extracto etanólico de ***Vaccinium corymbosum*** sobre cepas de ***Cándida albicans*** a diferentes concentraciones: 50%, 75% y 100% lo cual demuestra que este hongo es susceptible al extracto de arándanos desde un 50% teniendo un halo de inhibición de 10mm, al 75% teniendo un halo de inhibición de 12mm, al 100% teniendo un halo de inhibición de 15mm, estos resultados demuestran que el efecto antimicótica depende de la concentración del extracto. De acuerdo a esto **Anselmo R. (2018)** ⁽⁶⁾ desarrollo un estudio denomina “Determinar si el extracto etanólico de las hojas de *Lomanthus truxillensis* tiene actividad antimicótica comprobando así su efecto inhibitorio en cepas de *Candida albicans* y *Aspergillus brasiliensis*”. En la metodología se realizó la marcha fitoquímica donde se obtuvo: alcaloides, flavonoides, aminoácido, taninos, quinonas, glicósidos, saponinas, compuestos fenólicos, azúcares reductores y esteroides, también se calculó la actividad antimicótica por el método de difusión de agar y las concentraciones que se administraron del extracto etanólico de las hojas de *Lomanthus truxillensis* Cabrera, fueron de 5%, 15%, 30% y 75%; a las cuáles se le realizó ensayos microbiológicos. Demostrando que el extracto etanólico vegetal tuvo efecto inhibitorio frente a *Candida albicans* y *Aspergillus brasiliensis*, al aplicar diferentes concentraciones, siendo de concentración mínima inhibitoria el 5%, respecto a los halos de inhibición, se logró obtener una sensibilidad límite en concentraciones de 5% y 15%. Mientras que a concentraciones de 30% y 75%, se logró obtener una sensibilidad mayor, donde se evidenció la actividad antimicótica significativa. En conclusión, el cultivo

de *Candida albicans* presentó mayor sensibilidad frente al extracto etanólico de concentración 75% con un promedio de 22,01mm (halo de inhibición) siendo más eficaz en la actividad antimicótica, mientras que, frente al cultivo *Aspergillus brasiliensis* presentó un promedio de 9,96mm (halo de inhibición). Estos resultados estarían corroborando los datos obtenidos en la investigación en cuanto a la marcha fitoquímica. En lo que corresponde al efecto inhibitorio en relación a las concentraciones experimentales, confirma que a mayor concentración mayor efecto inhibitorio presentara.

Datos que además se alinean por lo propuesto por **Alcalá M (2011)** ⁽⁴⁾ que realizó un estudio denominado “Actividad antimicótica del aceite esencial de las hojas de *Minthostachys mollis*(muña) comparado con el fluconazol en el cultivo de *Candida albicans* de Junin”. Estudiaron el efecto antimicótico mediante el método Kirby-Bauer, para ello usaron una cepa clínica de *Candida albicans*. Los grupos de estudio fueron grupo muña 25%, grupo muña 50%, grupo muña 100%, un grupo control positivo (Fluconazol), y un grupo control negativo (aceite mineral). El análisis estadístico se realizó mediante la Prueba de Kruskal-Wallis y el Test de Dunn usando el paquete SPSS v.17.0. Se consideró un nivel de significancia < 0,05. La mediana de los halos de inhibición del GM25% fue de (32,00 mm); del GM50% (40,00 mm); del GM100% (46,80mm) y del grupo Fluconazol (39,00mm). No se obtuvo halos de inhibición en el grupo control negativo. Concluyeron que el aceite esencial de las hojas de *Minthostachys mollis* (al 100%) tuvo mayor efecto contra la *Candida albicans* que el Fluconazol; además, el efecto antimicótico del Fluconazol fue mayor que la *Minthostachys mollis* al 25%, y fue el mismo que la *Minthostachys mollis* al 50%. Resultados que estarían sosteniendo los datos hallados en el estudio, en cuanto a los efectos de las diferentes concentraciones del extracto del arándano, propuestos en los objetivos de esta investigación.

4.3 Contrastación de hipótesis

Las distintas concentraciones del extracto etanólico de *Vaccinium corymbosum L.* (Arándanos) en cepas *Candida albicans* presentan diferentes tamaños de los halos de inhibición (mm), para ello se realizó el siguiente contraste de hipótesis:

$$H_0 \equiv t_1 = t_2 = t_3 = t_4 = t_5 \quad \text{Vs} \quad H_1 \equiv t_i \neq t_j$$

Es decir, se contrastó que no hay diferencia en las medias de las concentraciones del extracto de *Vaccinium corymbosum* L. (arándanos) en cepas *Candida albicans* frente a la alternativa de que al menos una media difiere de otra.

El modelo matemático es:

$$y_{ij} = \mu + \tau_i + u_{ij}, \quad i = 1, \dots, I; \quad j = 1, \dots, n_i$$

Dónde:

y_{ij} : es la variable aleatoria que representa la observación j -ésima del i -ésimo tamaño del halo de inhibición (variable respuesta).

μ : Es un efecto constante, común a todas las concentraciones del factor, denominado media global.

τ_i : es la parte de y_{ij} debida a la acción del nivel i -ésimo, de la concentración que será común a todos los elementos sometidos a ese nivel del factor, llamado efecto de la concentración i -ésimo.

u_{ij} : son variables aleatorias que engloban un conjunto de factores, cada uno de los cuales influye en la respuesta sólo en pequeña magnitud pero que de forma conjunta debe tenerse en cuenta. Es decir, se pueden interpretar como las variaciones causadas por todos los factores no analizados y que dentro del mismo tratamiento variarán de unos elementos a otros. Reciben el nombre de perturbaciones o error experimental.

El objetivo es estimar el tamaño de los halos de inhibición (mm) y contrastar la Hipótesis de que todos los niveles del factor (concentraciones) producen el mismo efecto, frente a la alternativa de que al menos dos difieren entre sí. Para ello, se supone que los errores experimentales son variables aleatorias independientes igualmente distribuidas según una Normal de media cero y varianza constante.

Tabla N° 16. Diámetros de inhibición en milímetros.

Microorganismo	DIAMETROS DE INHIBICION EN MILIMETROS				
	Fluconazol	Blanco	50 %	75 %	100%
<i>Candida albicans</i> ATCC10231	18	6	10	12	14
	17	6	10	12	15
	17	6	9	12	14

*El tamaño de los pocillos es de 6mm, por lo tanto, cuando se reporta 6 mm indica que no hay formación de halo de inhibición.

Fuente: Elaboración propia

En el procesamiento de los resultados se obtuvo una colección de 15 unidades experimentales y se estudió el efecto de las concentraciones del extracto etanólico de ***Vaccinium corymbosum L.*** (arándanos) en cepas ***Candida albicans*** en 5 placas, Es decir, se busca contrastar el efecto de un solo factor, que se presenta con cinco niveles, sobre la variable respuesta.

Las concentraciones medias de extracto etanólico de ***Vaccinium corymbosum L.*** (arándanos) en cepas ***Candida albicans*** son iguales en las cinco placas tomadas en tres momentos, para ello se realizó el siguiente contraste de Hipótesis:

Nivel de confianza: 95%

Nivel de significancia: 5%

Variable respuesta: Tamaño del diámetro de los halos de inhibición en mm.

Factor: Extracto etanólico de ***Vaccinium corymbosum L.*** (arándanos) en cepas ***Candida albicans*** con cinco niveles. Es un factor de efectos fijos ya que viene decidido que niveles concretos se van a utilizar.

Modelo completo: Los cinco tratamientos se prueban en cada placa tres veces

Tamaño del experimento: Número total de observaciones (15). En cada placa se registra el tamaño del halo de inhibición por cada una de las concentraciones tres veces.

Hipótesis General:

H₁: El extracto etanólico de *Vaccinium corymbosum L.* (arándanos) posee efectos antimicóticos “in vitro” en cepas *Candida albicans*.

H₀: El extracto etanólico de *Vaccinium corymbosum L.* (arándanos) no posee efectos antimicóticos “in vitro” en cepas *Cándida albicans*.

Tabla N° 17. Pruebas de los efectos inter-sujetos.

Pruebas de los efectos inter-sujetos

Variable dependiente: Diámetros de inhibición en milímetros

Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	225,733 ^a	4	56,433	282,167	,000
Intersección	2112,267	1	2112,267	10561,333	,000
Contenido	225,733	4	56,433	282,167	,000
Error	2,000	10	,200		
Total	2340,000	15			
Total corregida	227,733	14			

a. R cuadrado = ,991 (R cuadrado corregida = ,988)

Fuente: propia.

La Tabla ANOVA, muestra que:

En la Tabla ANOVA, el valor del estadístico de contraste de igualdad de medias, F = 282.167 deja a su derecha un p-valor de 0.000, menor que el nivel de significación del 5%, por lo que se rechaza la Hipótesis nula de igualdad de medias. Es decir,

existen diferencias significativas en las concentraciones del extracto etanólico de ***Vaccinium corymbosum L.*** (arándanos) en cepas ***Candida albicans***

Es decir, existen diferencias significativas en el tamaño de los halos de inhibición (mm) en las concentraciones del extracto etanólico de ***Vaccinium corymbosum L.*** (arándanos) en cepas ***Candida albicans***. La salida de SPSS también nos muestra que R cuadrado vale 0.991, indicándonos que el modelo explica el 99% de la variabilidad de los datos.

Decisión estadística: Como el p_valor obtenido 0.000 es menor que el nivel de significancia se rechaza la Hipótesis nula por lo tanto: *El extracto etanólico de ***Vaccinium corymbosum L.*** (arándanos) posee efectos antimicóticos “in vitro” en cepas ***Candida albicans***.*

Hipótesis Específicas

Hipótesis Específica N° 1

H₁: El extracto etanólico de ***Vaccinium corymbosum L.*** (arándanos) contiene tipos de metabolitos secundarios relacionados con el efecto antimicótico.

H₀: El extracto etanólico de ***Vaccinium corymbosum L.*** (arándanos) no contiene tipos de metabolitos secundarios relacionados con el efecto antimicótico.

Grupos = Concentración al 50%

Tabla N° 18. Estadística para una muestra al 50%:

Estadísticos para una muestra^a

	N	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
Diametros de inhibición en milímetros	3	9,67	,577	,333

a. Grupos / Contenido = Concentración al 50%

Prueba para una muestra^a

	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	95% Intervalo de confianza para la diferencia	
					Inferior	Superior
Diametros de inhibición en milímetros	29,000	2	,001	9,667	8,23	11,10

a. Grupos / Contenido = Concentración al 50%

Fuente: propia.

Decisión estadística: Como el p -valor obtenido en la concentración al 50% halos de inhibición de promedio de 9.67mm es decir si hay presencia de metabolitos secundarios se rechaza la Hipótesis nula, por lo tanto: El extracto etanólico de ***Vaccinium corymbosum L.*** (arándanos) contiene tipos de metabolitos secundarios relacionados con el efecto antimicótico.

Hipótesis Específica N° 2

H₁: El extracto etanólico de ***Vaccinium corymbosum L.*** (arándanos) tiene efectos antimicóticos in vitro frente a cepas ***Candida albicans*** a diferentes concentraciones.

H₀: El extracto etanólico de ***Vaccinium corymbosum L.*** (arándanos) no tiene efectos antimicóticos in vitro frente a cepas ***Candida albicans*** a diferentes concentraciones.

Grupos / Contenido = Concentración al 75%

Tabla N° 19. Estadística para una muestra al 75%.

Estadísticos para una muestra^a

	N	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
Diametros de inhibición en milímetros	3	12,00	,000 ^b	,000

a. Grupos / Contenido = Concentración al 75%

b. No puede calcularse T porque la desviación típica es 0.

Descriptivos

Diametros de inhibición en milímetros

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo	Varianza entre componentes
					Límite inferior	Límite superior			
Blanco	3	6,00	,000	,000	6,00	6,00	6	6	
Control	3	17,33	,577	,333	15,90	18,77	17	18	
Concentración al 50%	3	9,67	,577	,333	8,23	11,10	9	10	
Concentración al 75%	3	12,00	,000	,000	12,00	12,00	12	12	
Concentración al 100%	3	14,33	,577	,333	12,90	15,77	14	15	
Total	15	11,87	4,033	1,041	9,63	14,10	6	18	
Modelo									
Efectos fijos			,447	,115	11,61	12,12			
Efectos aleatorios				1,940	6,48	17,25			18,744

Fuente: propia.

Decisión estadística: El intervalo de confianza al 95% tiene como límite el valor doce ya que el promedio obtenido en la placa en las tres lecturas es el mismo (el intervalo no contiene al 0). De este resultado se deduce: El extracto etanólico de ***Vaccinium corymbosum L.*** (arándanos) tiene efectos antimicóticos in vitro frente a cepas ***Candida albicans*** a diferentes concentraciones.

Hipótesis Específica N° 3

H₁: El extracto etanólico de ***Vaccinium corymbosum L.*** (arándanos) tiene mejor efecto antimicótico que el Fluconazol frente a cepas ***Candida albicans*** en estudio in vitro.

H₀: El extracto etanólico de ***Vaccinium corymbosum L.*** (arándanos) no tiene mejor efecto antimicótico que el Fluconazol frente a cepas ***Candida albicans*** en estudio in vitro.

Grupos / Contenido = Concentración al 100%

Tabla N° 20. Estadística para una muestra al 100%.

Estadísticos para una muestra^a

	N	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
Diametros de inhibición en milímetros	3	14,33	,577	,333

a. Grupos / Contenido = Concentración al 100%

Prueba para una muestra^a

	Valor de prueba = 0					
	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	95% Intervalo de confianza para la diferencia	
					Inferior	Superior
Diametros de inhibición en milímetros	43,000	2	,001	14,333	12,90	15,77

a. Grupos / Contenido = Concentración al 100%

Fuente: propia.

Decisión estadística: Como el p_valor obtenido en la concentración al 100% muestra halos de inhibición de promedio 14.33 mm menor que Fluconazol con 17.33 mm, se rechaza la Hipótesis alterna, por lo tanto, el extracto etanólico de ***Vaccinium corymbosum L.*** (arándanos) no tiene mejor efecto antimicótico que el Fluconazol frente a cepas ***Candida albicans*** en estudio in vitro.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

CONCLUSIONES

1. El extracto etanólico de *Vaccinium corymbosum L.* (arándanos) presenta metabolitos secundarios tales como antocianinas, alcaloides, lactonas, flavonoides, aminoácidos, triterpenos y azúcares reductores; especialmente flavonoides glucosídicos metabolitos que poseerían el efecto antimicótico.
2. El extracto etanólico de *Vaccinium corymbosum L.* (arándanos) posee efectos antimicóticos “*in vitro*” frente a cepas de *Candida albicans*, a la concentración 50% fue sensible con halo de inhibición de 9.66mm, la concentración de 75% también sensible con halo de inhibición de 12.00mm y la que mayor halo de inhibición presento fue la de 100% con un halo de inhibición de 14.33mm.
3. Al comparar la eficacia que presentará el extracto etanólico de los frutos de *Vaccinium corymbosum L.* (arándanos) frente a Fluconazol en cepas de *Candida albicans*, ninguna de las concentraciones demostró tener mayor efecto que el control.

RECOMENDACIONES

- a. Realizar evaluaciones del extracto etanólico de frutos de ***Vaccinium corymbosum L.*** (arándanos) a concentraciones mayores a fin de encontrar una que pueda tener más eficacia.
- b. Desarrollar más estudios en la orientación propuesta a fin de corroborar los resultados obtenidos, así como también realizar combinaciones con otras plantas para evaluar efecto sinérgico.
- c. Ampliar estudios enfocados a la caracterización de los frutos de ***Vaccinium corymbosum L.*** (arándanos) estudios de identificación de los principios activos, y estudios que ayuden a determinar su mecanismo de acción, también realizar investigaciones de los arándanos y su efecto en otros hongos de importancia médica.
- d. Por la efectividad antimicótica de los frutos de ***Vaccinium corymbosum L.*** (arándanos), se recomienda producir preparados magistrales con el principio activo de la planta, para darle uso terapéutico.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Brack A. Diccionario Enciclopédico de plantas útiles del Perú. Centro Bartolomé de las Casas. Cuzco 1999.
2. Florencio C.(2008) “Caracterización de cepas de *Candida albicans* aisladas de la cavidad oral de pacientes portadores de VIH y sanos ”Universidad de Colina, Facultad de Medicina (citado 06 junio 2018) Disponible en http://digeset.ucol.mx/tesis_posgrado/Pdf/RUEDA_GORDILLO_FLORENCIO.pdf
3. Situación de la resistencia antifúngica de especies del género *Cándida* en Perú, Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica. Zurita S. (2018) vol.35 no.1
4. Alcalá M, et al. Actividad antimicótica del aceite esencial de las hojas de *Mintostachys mollis* (Muña) comparado con el Fluconazol en cultivo de *candida albicans*. Rev.CIMEL.2011;16(2):83-86.
5. Ruiz Q, Julio R, Determinación de la actividad antifúngica contra *Candida albicans* y *Aspergillus niger* de 10 plantas medicinales de 3 departamentos del Perú 2015.
6. Anselmo R, Flores R. actividad antimicótica del extracto etanólico de las hojas de *Lomanthus truxillensis* cabrera en cepas de *Cándida albicans* ATCC 10231 y *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404, (in vitro). (tesis). Lima- Perú: 2018.
7. Soto H. “Efecto Antibacteriano y Antifúngico comparativo de los extractos acuosos del *Zea Mays* L. (maíz morado), *Rubus glaucus* (mora andina);

- Opuntia soherensii (ayrampo) y diseño de un gel de limpieza cutánea”.Universidad Mayor de San Marcos: Perú 2014. Disponible en <http://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/cybertesis/3888>.
8. VALLEJO, Claudia V. ; ROLLAN, Graciela; RODRIGUEZ-VAQUERO, María J. “Sachún J.“Actividad antifúngica de extractos fenólicos de arándanos sobre levaduras contaminantes de jugos”. Universidad Antioquia: Colombia 2019.
 9. Bernal L. “Evaluación de la variación en perfiles cromatográficos, capacidad antioxidante y actividad antifúngica de especímenes silvestres de agraz”. Universidad Distrital Francisco Jose de Caldas: Colombia 2017. Disponible en <http://hdl.handle.net/11349/14451>
 10. Ormozabal C. “Capacidad antioxidante de extractos secos provenientes de berries ,maqui (*Aristotelia chilensis*), murtila (*Ugni molinae*) y arándano (*Vaccinium corymbosum*) En el año 2014 “ [tesis en internet]. Universidad de Chile [citada 27 abril 2018]Disponible en <http://www.repositorio.uchile.cl/handle/2250/129939>
 11. Lazo SM,Rivas VE.Estudio de las propiedades antifungicas de los extractos de hojas de cassia grandis (carao) y bulbos de allium sativum (ajo) en microsporum canis, trichophyton rubrum y epidermophyton floccosum.(Tesis para licenciatura).El salvador: Universidad del salvador;2004.
 12. Sarkinas A, Jasutiene I. Comparative study of anthocyanin composition, antimicrobial and antioxidant activity in bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) and blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) fruits., Polonia 2009 (citada 29 de Abril) Disponible en <https://europepmc.org/abstract/med/19702172>
 13. Juan Carlos G, Guillermo G “El cultivo del arándano en Asturias” (Proyecto internet) Servicio regional de Investigación y Desarrollo Agroalimentario

Ministe(citada 27 de Abril). Disponible en [http://www.naviaprio de medio ambiente y medio rural y marino, Gobierno de España \(orca.com/images/documentos/documento_173.pdf](http://www.naviaprio de medio ambiente y medio rural y marino, Gobierno de España (orca.com/images/documentos/documento_173.pdf)

14. RIOS DE SOUZA, V.; PIMENTA PEREIRA, P. A.; TEODORO DA SILVA, T. L.; DE OLIVEIRA LIMA, L.C.; PIO, R. Y QUEIROZ, F.: Determination of the bioactive compounds, antioxidant activity and chemical composition of Brazilian blackberry, red raspberry, strawberry, blueberry and sweet cherry fruits, pp.362–368, 2014.
15. Cunningham D, Vannozzi S, Turk R “Constituyentes fitoquimicos del arandano Americano y sus beneficios para la salud”, *Fitoterapia*, 5 (1): 5-16, 2005. (citada 27 de Abril). Disponible en <http://static1.1.sqspcdn.com/static/f/1381323/18832413/1340082438877/Arandano+americano.pdf?token=hZ3Sag5aGRAAqddb9qBdB5%2BpCq4%3D>
16. Garcia L(2014) “Levaduras Asociadas a Infecciones Nosocomiales y su Sensibilidad a los Azoles” UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO (citada 14 junio 2018). Disponible en <http://ri.uaemex.mx/bitstream/handle/20.500.11799/14982/420033.pdf?sequence=1>
17. Masia M.(1998)” Factores determinantes de la colonización e infección por especies de candida resistentes al fluconazol en pacientes con infección por el virus de la inmunodeficiencia humana” (tesis internet) Universidad Miguel Hernández Facultad de Medicina Departamento de Medicina y Psiquiatría (citada 06 junio 2018). Disponible en <http://dspace.umh.es/bitstream/11000/757/7/TESIS%20Masi%C3%A1%20Canuto%2C%20M%C2%AA%20del%20Mar.pdf>

18. Paredes G(2014) “Patogenia experimental y caracterización molecular de hongos oportunistas emergentes y evaluación de la terapia antifúngica” UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI (citada 17 Junio 2018). Disponible en <https://www.tdx.cat/handle/10803/145474>

19. Cavalieri, Stephen, y col. Manual de Pruebas de Susceptibilidad Antimicrobiana. [Internet]. Seattle, Washington; 2005 [citado el 15 diciembre 2018]. 242 p. Disponible en: http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&task=doc_view&qid=22691&Itemid=270

20. Davis y col. Effects of Commonly Used Topical Antimicrobial Agents on *Acinetobacter baumannii*: An In Vitro Study. *Military Medicine*, [Internet] 2008 [citado el 16 de diciembre 2018] 173, 1:74–78, disponible en: <http://militarymedicine.amsus.org/doi/pdf/10.7205/MILMED.173.1.74>

21. María P, Edna G, Bonfilio L, Norma M, Nereyda C, Juliàn M, Gerardo M “Candidiasis oral en pacientes seropositivos al VIH y casos SIDA. Aspectos clínicos, micológicos y terapéuticos” [Internet] *Revista Cubana de Medicina Tropical* v.58 n.3 Ciudad de la Habana sep.-dic. 2016 (Citado 20 Noviembre 2018) Disponible en : <http://scielo.sld.cu/pdf/mtr/v58n3/mtr01306.pdf>

22. Masia M.(1998)” Factores determinantes de la colonización e infección por especies de *Candida* resistentes al fluconazol en pacientes con infección por el virus de la inmunodeficiencia humana” (tesis internet) Universidad Miguel Hernández Facultad de Medicina Departamento de Medicina y Psiquiatría (citada 06 junio 2018). Disponible en <http://dspace.umh.es/bitstream/11000/757/7/TESIS%20Masi%C3%A1%20Canuto%2C%20M%C2%AA%20del%20Mar.pdf>

23. Marco S. (2007) “*Candida albicans*” Universidad Andres Bello (citada 06 junio 2018). Disponible en <http://candidalbicans.blogspot.com/>.

24. Al-Abeid, H. M., Abu-Elteen, K. H., Elkarmi, A. Z., y Hamad, M. A. (2004). Isolation and characterization of *Candida* spp. in Jordanian cancer patients: Prevalence, pathogenic determinants, and antifungal sensitivity. *Japanese Journal of Infectious Diseases*, 57(6), 279-284
25. Juan Carlos C.(2014) "Estudios de proceso de obtención de zumo de arandanos y su utilización como ingrediente para la obtención de un alimento funcional por impregnación al vacío" (tesis internet) Universidad Politecnica de Valencia(citada 06 de junio 2018). Disponible en <https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/38988/CASTAGNINI%20%20Estudio%20del%20proceso%20de%20obtene%C3%B3n%20de%20zumo%20de%20ar%C3%A1ndanos%20y%20su%20utilizaci%C3%B3n%20como%20ingredie....pdf?sequence=22&isAllowed=y>
26. Tomasa A.Nolla-Salas. Infección nosocomial. Concepto, prevención y tratamiento. Infecciones producidas por hongos. SEIMUC 1994. pag. 195-204
27. Hughes W. 1997 Guidelines for the use of antimicrobial agents in neutropenic patients with unexplained fever. *Clin Infect Dis* 1997; 25:551-73
28. Mandell 6ª ed. 2005. Principles and practice of infectious diseases. (Elsevier Churchill Livingstone) Vol. 2
29. Magill SS. Triazole cross-resistance among *Candida* spp.: case report, occurrence among bloodstream isolates, and implications for antifungal therapy. *Journal of Clinical Microbiology*, Feb 2006,p. 529-535
30. Kam LW, Lin JD. Management of systemic candidal infections in the intensive care unit. *AM J Health Syst Pharm* 2002 Jan 1;59(1):33-41

31. Ynca Cahuanca(2018) “Especies de cándida implicadas en candidiasis pseudomembranosa bucal, en pacientes con cáncer de cabeza y cuello sometidos a radioterapia, del Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas y Hospital Nacional Edgardo Rebagliati Martins en el año 2005.” [citada 28 2018] Disponible en http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/cybertesis/2780/Ynca_cj.pdf?sequence=1&isAllowed=y
32. Cultivar [Internet]. Ecured. 2018 [citado 09 de setiembre de 2018]. Recuperado a partir de: <https://www.ecured.cu/Cultivar>
33. Especie [Internet]. Green Facts. 2018 [citado 09 de setiembre de 2018]. Recuperado a partir de: <https://www.greenfacts.org/es/glosario/def/especie.htm>
34. Bioactivo [Internet]. Instituto Nacional del Cáncer. 2018 [citado 09 de setiembre de 2018]. Recuperado a partir de: <https://www.cancer.gov/espanol/publicaciones/diccionario/def/compuesto-bioactivo>
35. Nutraceuticos [Internet]. Sociedad Española de Nutraceutica Medicina. 2018 [citado 09 de setiembre de 2018]. Recuperado a partir de: <http://www.nutraceuticamedica.org/definicion.htm>
36. oligómero [Internet]. Real Academia de Ingenieria. 2018 [citado 09 de setiembre de 2018]. Recuperado a partir de: <http://diccionario.raing.es/es/lema/olig%C3%B3mero>
37. Perilla M, Ajello G, Bopp C, et al. Manual de Laboratorio para la Identificación y Prueba de Susceptibilidad a los Antimicrobianos de Patógenos Bacterianos de Importancia para la Salud Pública en el Mundo en Desarrollo. Manual. Organización Mundial de la Salud; 2004.

38. García L. Implementación de un método de conservación de cepas bacterianas.[tesis de titulación]. México: Universidad Nacional Autónoma de México; 2013.57p.
39. Koneman EW.Diagnóstico Microbiológico.Texto y atlas en color.6a ed. Buenos Aires: Editorial Panamericana 2008.
40. Gonzales A. obtención de aceites y extractos etanólicos de plantas del amazonas. [Tesis de licenciatura]. Universidad nacional de Colombia. 2004.
41. Duraffourd C,y Lapraz J. Cuaderno de Fitoterapia Clínica. Editorial Masson; Francia; 1983
42. Descriptores de la ciencia de la salud [internet]. Sao paulo: Biblioteca virtual de salud. 2003 [citado 14 de noviembre de 2018]. Recuperado a partir de: <http://decs.bvs.br/cgi-bin/wxis1660.exe/decsserver/>.
43. Kuklinski C. Farmacognosia estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural.edi.omega; 2000.
44. Nordarse, Rafael y col. Determinación del poder bactericida de la crema de vancomicina al 0,5 % frente a *Staphylococcus aureus*. Revista Cubana de Medicina Militar. [Internet] 2009 [citado 08 de diciembre 2018];38(3-4)73-78. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/mil/v38n3-4/mil083-409.pdf>

ANEXO 1. Matriz de consistencia

EFECTO ANTIMICÓTICO "IN VITRO" DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE <i>VACCINIUM CORYMBOSUM</i> L. (ARÁNDANOS) EN CEPAS <i>CANDIDA ALBICANS</i>						
PROBLEMAS	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES		METODOLOGÍA	INSTRUMENTOS
GENERAL	GENERAL	GENERAL	VARIABLE INDEPENDIENTE	INDICADORES	TIPO	
¿El extracto etanólico de <i>Vaccinium corymbosum</i> L. (arándanos) tendrá efectos antimicóticos "in vitro" en cepas de <i>Candida albicans</i> ?	Determinar el efecto antimicótico del extracto etanólico en diferentes concentraciones de <i>Vaccinium corymbosum</i> L. (arándanos) "in vitro" en cepas de <i>Candida albicans</i> .	El extracto etanólico de <i>Vaccinium corymbosum</i> L. (Arándanos) posee efectos antimicóticos "in vitro" en cepas de <i>Candida albicans</i> .	Extracto etanólico de <i>Vaccinium corymbosum</i> L. (Arándanos)	- Grado de concentración al 50% - Grado de concentración al 75% - Grado de concentración al 100%	- Experimental (cuasi experimental) - Transversal	- Ficha de observación participante - Placas Petri
ESPECÍFICOS	ESPECÍFICOS	ESPECÍFICOS	VARIABLE DEPENDIENTE	INDICADORES	NIVEL	
1. ¿Qué metabolitos secundarios están presentes en el extracto etanólico de <i>Vaccinium corymbosum</i> L. (arándanos)?	1: Identificar los metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de <i>Vaccinium corymbosum</i> L. (arándanos).	1: El extracto etanólico de <i>Vaccinium corymbosum</i> L. (Arándanos) contiene tipos de metabolitos secundarios relacionados con el efecto antimicótico.	Efecto Antimicótico	<i>Candida albicans</i>	Aplicado	
2. ¿Cuál será la concentración del extracto etanólico de <i>Vaccinium corymbosum</i> L. (arándanos), que posee efecto antimicótico "in vitro" en cepas de <i>Candida albicans</i> ?	2: Determinar la concentración del extracto etanólico de <i>Vaccinium corymbosum</i> L. (arándanos) que posee efecto antimicótico "in vitro" en cepas de <i>Candida albicans</i> .	2: El extracto etanólico de <i>Vaccinium corymbosum</i> L. (Arándanos) tiene efectos antimicóticos in vitro frente a cepas de <i>Candida albicans</i> a diferentes concentraciones.			DISEÑO	POBLACIÓN Y MUESTRA
3. ¿Qué nivel de eficacia presentará el extracto etanólico de <i>Vaccinium corymbosum</i> L. (arándanos) en comparación con el Fluconazol frente a cepas de <i>Candida albicans</i> en estudio in vitro?	3: Comparar el nivel de eficacia que presentará el extracto etanólico de <i>Vaccinium corymbosum</i> L. (arándanos) y el Fluconazol frente a cepas de <i>Candida albicans</i> en estudio in vitro.	3: El extracto etanólico de <i>Vaccinium corymbosum</i> L. (Arándanos) tiene mejor efecto antimicótico que el Fluconazol frente a cepas de <i>Candida albicans</i> en estudio in vitro.			RG= O ₁ X O ₂ RG= O ₃ X O ₄	- cepas de <i>Candida albicans</i>

ANEXO 2: Certificado Botánico

Hamilton W. Beltrán S.
Consultor Botánico
Calle Natalio Sánchez 251- Jesús María
hamiltonbeltran@yahoo.com

CERTIFICACION BOTANICA

El Biólogo colegiado y autorizado por el Inrena según RD. N° 334-2013-MINAGRI-DGFFS/DGEFFS, con Registro N° 37, certifica que la planta conocida como "ARANDANO" proporcionada por los Bachilleres de la Universidad Inca Garcilaso de la Vega, Facultad Ciencias Farmacéuticas y Bioquímica. NATALY DEL CARMEN VALDEZ HINOSTROZA y JHONATAN CRISTHOFER TAMBINI PEREZ, ha sido estudiada científicamente y determinada como Vaccinium corymbosum y de acuerdo al Sistema de Clasificación de Cronquist 1981, se ubica en las siguientes categorías:

Reino: Plantae
División: Magnoliophyta
Clase: Magnoliopsida
Subclase: Dilleniidae
Orden: Ericales
Familia: Ericaceae
Género: Vaccinium
Especie: Vaccinium corymbosum L

Se expide la presente certificación a solicitud de los interesados para los fines que estime conveniente.

Lima, 24 Mayo 2018


Bióg. Hamilton Beltrán
Hamilton Wilmer Beltrán Santiago
Biólogo - Botánico
C.B.P. 2719

ANEXO 3: Certificado de cepa *Candida albicans*

Thermo
SCIENTIFIC

Certificate of Quality

Product Name: *C. albicans* ATCC 10231 PK/5
Lot Number: 592064

Product Number: R4601503
Expiration Date: 2020-08-30
(YYYY-MM-DD)

This product has been manufactured, processed and packaged in accordance with Quality Systems Regulation, 21 CFR Part 820. Representative samples were tested per Remel Quality Control specifications and were found to meet performance criteria for this product.

Purity:

Standardized aliquots of the rehydrated product are inoculated onto nonselective media and examined for pure growth following the appropriate incubation. Selective and Differential media are also tested where applicable.

Viability And Quantification:

Each organism is recovered from the preserved state within the required time frame and at an acceptable level. Passage number is stated as the current preserved state.

Macroscopic And Microscopic Morphology:

Colony morphology is consistent with documented referenced description. Traditional staining is performed.

Biochemical Analysis:

Organism exhibits characteristic biochemical and/or enzymatic reactions. Automated and/or conventional testing was performed and results were within established limits. Antimicrobial testing performed where applicable. Results within expected ranges.

CFU/loop: >10(4)

Passage: 3

Gram Reaction: Gram Positive Yeast

Biochemical Profile: Vitek 2C YST

Appearance: Preserved Gel Matrix suspended in inoculating loop

pH: N/A

Signed

Sherry Mason

Product Performance Technologist

Anexo 4: Prueba de solubilidad



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA
CENPROFARMA
CENTRO DE CONTROL ANALÍTICO - CCA



PROTOCOLO DE ANÁLISIS N.º00490-CPF-2018

ORDEN DE ANÁLISIS : 005107/2018
SOLICITADO POR : JHONATAN CRISTHOFER TAMBINI PÉREZ
MUESTRA : ARÁNDANO
LOTE : ---
CANTIDAD : 250g
FECHA DE RECEPCIÓN : 26 de Octubre del 2018
FECHA DE FABRICACION : ----
FECHA DE VENCIMIENTO : ----

SOLUBILIDAD:

SOLVENTE	MÉTODO	RESULTADOS
ETANOL	USP 41	Positivo
METANOL	USP 41	Positivo
CLOROFORMO	USP 41	Negativo
AGUA	USP 41	Positivo
DMSO	USP 41	Positivo

Lima, 07 de Noviembre del 2018


QF. Gustavo Guerra Brizuela
Director del Centro de Control Analítico



ANEXO 5: Screening Fitoquímico



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA
CENPROFARMA
CENTRO DE CONTROL ANALÍTICO - CCA



PROTOCOLO DE ANÁLISIS N.º00319-CPF-2018

ORDEN DE ANÁLISIS : 04970/2018
SOLICITADO POR : JHONATAN TANBINI PÉREZ
MUESTRA : ARÁNDANO
NÚMERO DE LOTE : ----
CANTIDAD : 250g
FECHA DE RECEPCIÓN : 02 de Julio del 2018
FECHA DE FABRICACIÓN : ----
FECHA DE VENCIMIENTO : ----

MARCHA FITOQUÍMICA			
METABOLITO	ENSAYO	MÉTODOS	RESULTADOS
ANTOCIANINAS	Prueba Cualitativa	Cualitativo	++
ALCALOIDES	Reacción de Dragendorff	Cualitativo	+
	Reacción de Mayer	Cualitativo	-
	Reacción de Wagner	Cualitativo	+
LACTONAS	Reacción de Baljet	Cualitativo	+
FLAVONOIDES	Reacción de Shinoda	Cualitativo	++
AMINOÁCIDOS	Reacción de Ninhidrina	Cualitativo	+
CARDENÓLIDOS	Reacción de Kedde	Cualitativo	-
ESTEROIDES	Reacción de Liebermann - Burchard	Cualitativo	-
SAPONINAS	Reacción de espuma	Cualitativo	-
TANINOS	Reacción con cloruro férrico	Cualitativo	-
TRITERPENOS	Reacción de Liebermann - Burchard	Cualitativo	++
AZÚCARES REDUCTORES	Reacción de Fehling	Cualitativo	+++
FENOLES	Reacción de cloruro férrico	Cualitativo	-



"FARMACIA ES LA PROFESIÓN DEL MEDICAMENTO, DEL ALIMENTO Y DEL TÓNICO"

Jr. Puno N° 1002 Jardín Botánico Lima 1 - Perú
Tel: (51) 619-7000 anexo 4824 Fax: Ap. Postal 4559 - Lima 1
E-mail: ca@farmacia.unmsm.edu.pe <http://farmacia.unmsm.edu.pe>





UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
 (Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)
 FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA
 CENPROFARMA
 CENTRO DE CONTROL ANALÍTICO - CCA



Legenda:

- +++ : Reacción muy evidente
- ++ : Reacción evidente
- + : Reacción poco evidente
- : No hubo reacción

Lima, 16 de Julio del 2018

Gustavo Guerra

G.F. Gustavo Guerra Bozquez
 Director del Centro de Control



"FARMACIA ES LA PROFESIÓN DEL MEDICAMENTO, DEL ALIMENTO Y DEL TÓNICO"

Jr. Puno N° 1002, Jardín Botánico, Lima 1 - Perú
 ☎ (51) 619-7000 anexo 4824 📠 Ap. Postal 4559 - Lima 1
 ✉ cca.farmac@unmsm.edu.pe <http://farmacia.unmsm.edu.pe>

ISO 9001
 BUREAU VERITAS
 CERTIFICADA



ANEXO 6: Ficha Técnica Analítica

1. OBJETIVO:

Determinación de metabolitos en extracto etanólico de *Vaccinium corymbosum L.* (arándanos)

MATERIALES Y EQUIPOS:

- Beackers.
- Pipeta Pasteur.
- Frasco ambar de 2 litros
- 12 placas Petri
- Papel filtro
- Tubos de ensayo
- Baguetas
- Gasa
- Baguetas.
- Pipetas graduadas de 5 y 10mL.
- Balanza analítica.
- Balanza analítica METTLEP TOLEDO-XP205DR
- Rota vapor - BUCHI
- Cocinilla eléctrica
- Campana de extracción FRONTIER
- Estufa DIGISYSTEM –DSI 3000

REACTIVOS:

- Reactivo de Mayer
- Reactivo de Wagner
- Reactivo de Dragendorf
- H₂SO₄ 10%.
- Reactivo de Bajlet
- Reactivo de Shinoda
- Reactivo de Nihidrina.

- Reactivo de Kedde.
- Reactivo de Liebermann – Burchard
- Reactivo de Espuma
- Cloruro férrico
- Hipoclorito 0.1%
- Reactivo de Fehling
- Alcohol de 96°C
- Agua destilada

2. PROCEDIMIENTO:

A. La muestra se lava

Se realiza un lavado para eliminar posibles contaminantes, posteriormente se desinfecta con solución de hipoclorito al 0.1% y se enjuaga con agua destilada.



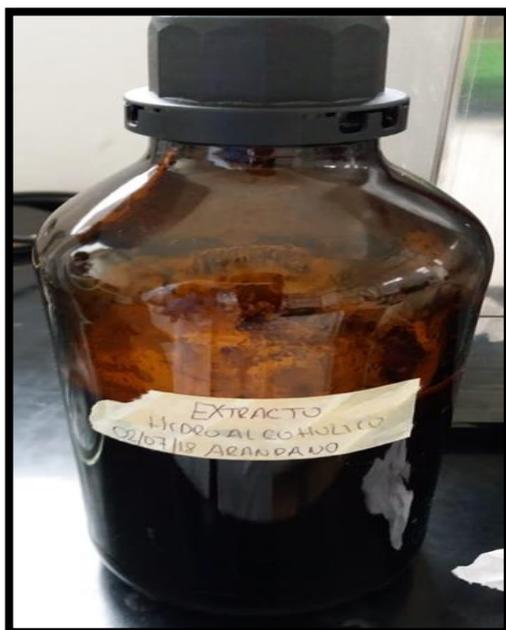
B. Se realiza el pesado para empezar con la extracción.

Se pesa 300 gramos de arándano, se procede a retirar la cascara con una cuchilla para posteriormente proceder con la trituration mediante un mortero.



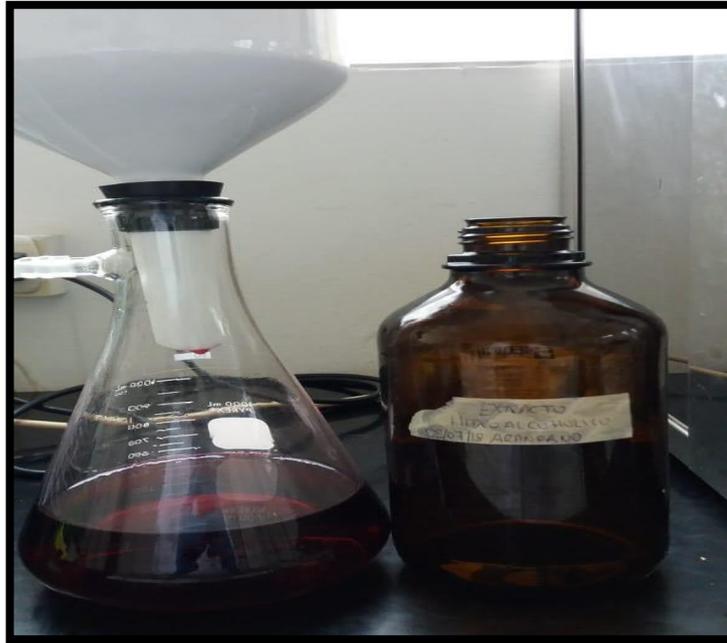
C. Se realiza la maceración.

En un frasco ámbar de 2 litros de capacidad se agrega, 300 gramos de la muestra anterior y 600mL de alcohol etílico al 96%, este se deja macerar por 10 días y se agita por 10 minutos cada 12 horas.



D. Una vez pasado los 10 días se realiza el filtrado del extracto.

Inicialmente se realiza un filtrado por gasa, para eliminar trazas. Posteriormente se realiza un filtrado por bomba al vacío, en el cual se utilizó papel whatman N°1,2 y 3. Clarificando la muestra y libre de trazas.



E. Secado de muestras.

Se procedió a verter la muestra en placas Petri para poder secarlas en la Estufa DIGISYSTEM –DSI 3000 hasta obtener peso constante en cada placa



MARCHA FITOQUÍMICA

Prueba para flavonoides

Ensayo de Shinoda: Tomar un 1 ml del filtrado etanólico en un tubo de ensayo, agregar varias limaduras de magnesio y por la pared del tubo dejar caer lentamente HCl concentrado (37%). La aparición de colores: naranja, rojo, violeta ó rosado, indican la presencia de flavonoides en el material vegetal.



Flavonoides – Shinoda. Resultado (++)

Prueba para antocianinas: Adicionar 2 ml del filtrado en un tubo de ensayo y añadir 1 ml de NaOH diluido. Observar la coloración formada. Por lo general Azul.

En otro tubo de ensayo adicionar 2 ml del filtrado y añadir 6 gotas de algún ácido mineral diluido (HCl ó H₂SO₄ al 10%). Observar la coloración formada. Por lo general de Rojo a Anaranjado.

Las antocianinas se reconocen por producir diferentes colores a diferentes pH.



Antocianina – Prueba cualitativa H_2SO_4 10% Resultado (++)

Identificación de Lactonas

Ensayo de Baljet

Tomar 2ml del extracto y adicionar 3-4 gtas del reactivo de Baljet que contiene ácido pícrico e hidróxido de sodio.

Resultado: Se considera positivo ante presencia de coloración anaranjada o roja oscura.



Lactonas – Baljet. Resultado (+)

Identificación de Alcaloides

Ensayo de Dragendorff:

Reacción no específica para alcaloides. Se agrega 1 mL de HCl 10% a 1 mL de extracto. Se calienta a 60°C por 10 minutos y se agrega sol de reactivo Dragendorff.

Resultado: se considera positivo ante presencia de precipitado anaranjado-marrón.



Alcaloide – Dragendorff. Resultado (+)

Ensayo de Mayer

Solución A: Disolver 1.36g de cloruro mercúrico con 60mL de agua.

Solución B: Disolver 5g de yoduro de potasio en 10mL de agua.

Mezclar: Las dos soluciones y aforar a 100mL con agua destilada.

Resultado: Se considera positivo ante la presencia de precipitado blanco.



Alcaloide – Mayer. Resultado (+)

Ensayo de Wagner

En una fiola de 100mL, disolver 1.27g de yodo (resublimado) y 2 gotas de yoduro de potasio en 20mL de agua: aforar la solución con 100mL de agua destilada.

Resultado: Se considera positivo abe la presencia de precipitados color marrón.



Alcaloide – Wagner. Resultado (+)

Cardenolidos

Prueba de Kedde:

Solucion A: acido 3,5-dinitrobenzoico al 2% en metanol.

Solucion B: KOH 2.7% en agua.

Mezclar Sol A: Sol B (1:1)

Tomar 2mL del extracto y agregar 1mL del reactivo de Kedde.

Resultado: Los cardenólidos y sus agliconas dan color azul o violeta que desaparece en 1-2 horas.



Cardenólicos – Kedde. Resultado (-)

Esteroides

Prueba de Liebermann-Burchard: Se mezcla 1ml de anhídrido acético y uno de clorofromo, se enfría a 0° y se le añade 1gta. de ácido sulfúrico

Resultado: Se considera positivo ante presencia de color azul, verde, rojo, anaranjado, etc. los que cambian con el tiempo a claro.



Esteroides – Liebermann – Burchard. Resultado (-)

Saponinas

Se coloca en un tubo de ensayo 2 ml del extracto se le agrega agua caliente (40 °C), se dejó reposar durante 15 a 30 minutos y luego se agitó manualmente durante 1 a 2 minutos.

Resultado: La formación de espuma se considera positiva.



Saponinas – Espuma. Resultado (-)

Taninos

Se toman alícuotas de 1ml del extracto y se agrega 3-4 gtas de cloruro férrico.

Resultado: Se considera positiva la aparición de un color azul oscuro a verde oscuro.



Tanino – Cloruro férrico. Resultado (-)

Fenoles

Se toman alícuotas de 1mL del extracto y se agrega 3-4 gotas de cloruro férrico.

Resultado: Se considera positivo la aparición de un precipitado de color azul oscuro a verde oscuro.



Fenoles – Cloruro férrico. Resultado (-)

Prueba para aminoácidos:

Ensayo de Ninhidrina: Tomar 1mL del extracto. Adicionarle 1ml de ninhidrina. Calentar hasta ebullición por 1min. Dejar enfriar y observar.

Resultado: Una coloración violeta o azul violeta determina positiva la prueba.



Aminoácidos – Nihidrina. Resultado (+)

Triterpenos:

Prueba de Liebermann-Burchard: Se toma 2 ml del extracto se le agrega 1mL de cloroformo resbalando por las paredes, 1mL de anhídrido acético y se deja reposar en frío.

Resultado: La aparición de colores rojo, rosa, verde, púrpura o azul en la interfase cuando se añaden 1 o 2 gotas de ácido sulfúrico concentrado se considera positiva.



Triterpenos – Liebermann – Burchard. Resultado (+)

Azúcares Reductores

Prueba de Fehling: Tomar 1mL del extracto en un tubo de ensayo y adicionar 1mL de Fehling A y 1mL de Fehling B (reactivos de sulfato de cobre y tartrato de sodio y potasio), calentar a fuego directo constante.

Resultado: Se considera positivo el precipitado rojo ladrillo de óxido cuproso.



Azucars reductores – Fehling. Resultado (+++)

ANEXO 7: Testimonio Fotográfico

a) 300 g de Arándanos



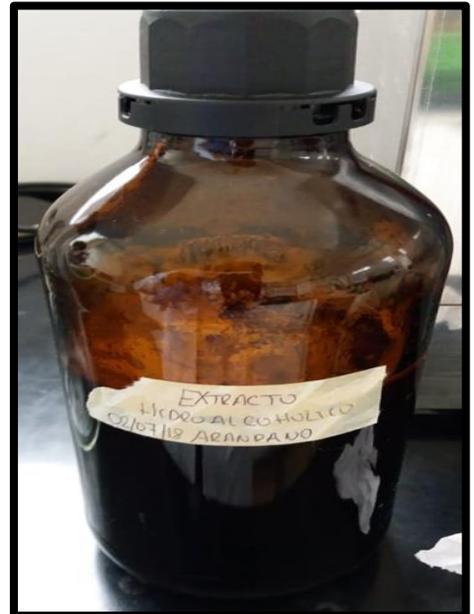
b) Trituración de arándanos



c) Equipo de filtración



d) Frasco de almacenamiento del extracto



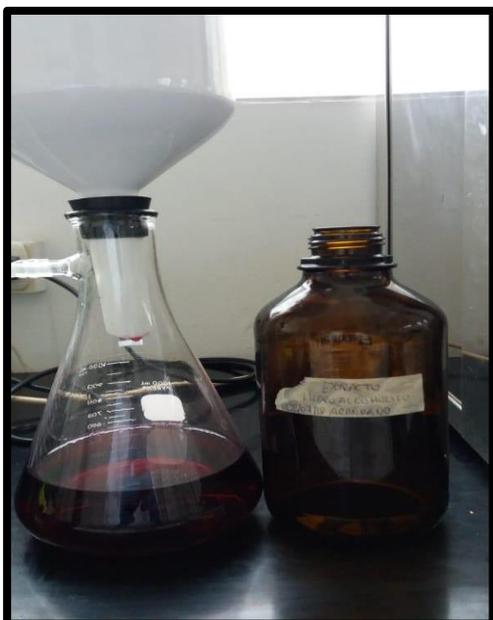
e) Proceso de filtración



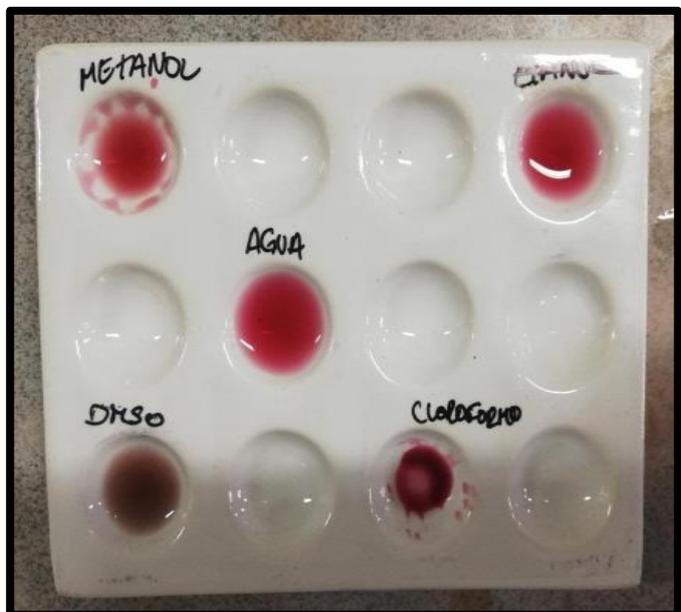
f) Filtración de la muestra



g) Extracto etanólico de Arándanos



h) Prueba de solubilidad



ANEXO 8: Eficacia Antimicótica en Arándanos

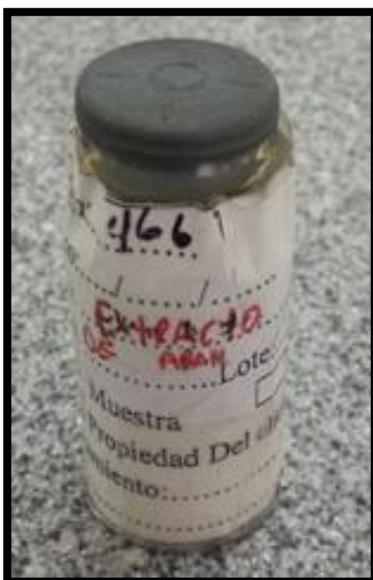


Ilustración 1. Extracto etanólico de *Vaccinium corymbosum* L. (arándanos)



Ilustración 2. Diluciones del extracto. 100%, 75%, 50%



Ilustración 3. Discos de control positivo (Fluconazol 25ug)



Ilustración 4. Homogenizando inóculo con la espátula de Drigasklye en la placa agar Sabouraud

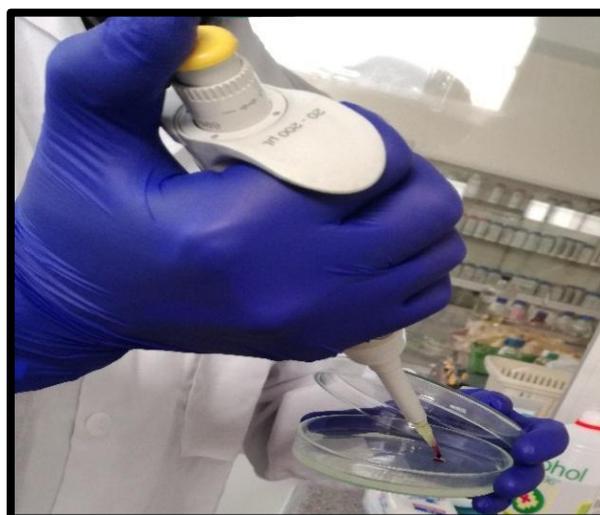


Ilustración 5. Agregando 15uL del extracto de *Vaccinium corymbosum L.* (arándanos) a cada pocillo de la placa de agar Sabouraud



Ilustración 6. Colocando los discos de control positivo (Fluconazol 25ug) en placa ya inoculada.

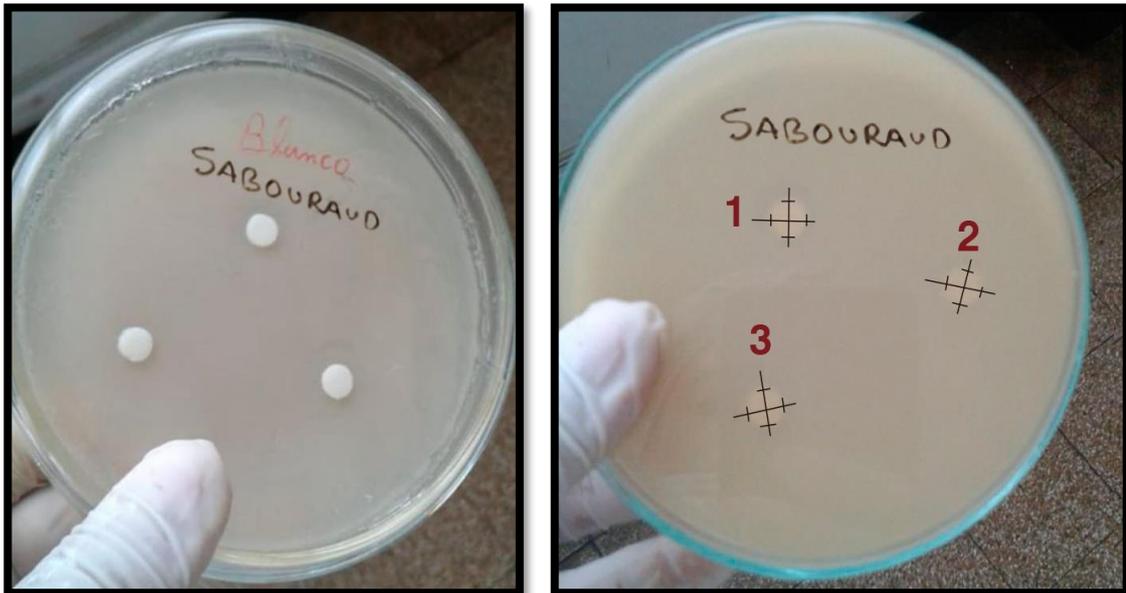


Ilustración 7. Resultados. Control blanco (solo alcohol). No presentó halos de inhibición. Crecimiento total. Vista anterior y posterior

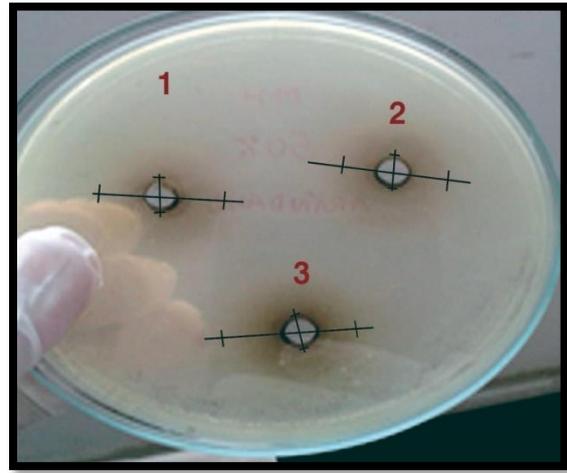


Ilustración 8. Resultados. Dilución 50%. Halos de inhibición. Disco 1. 10,00mm. Disco 2. 10,00mm. Disco 3. 9,00mm. Vista anterior y posterior

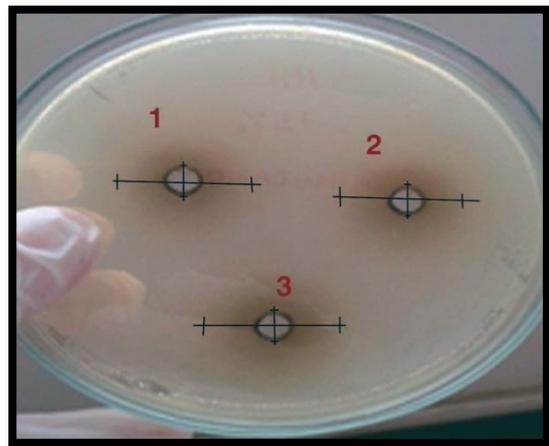


Ilustración 9. Resultados. Dilución 75%. Halos de inhibición. Disco 1.12,00mm. Disco 2. 12,00mm. Disco 3. 12,00mm. Vista anterior y posterior

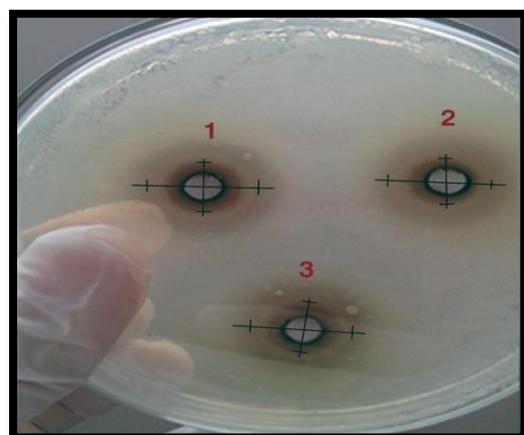
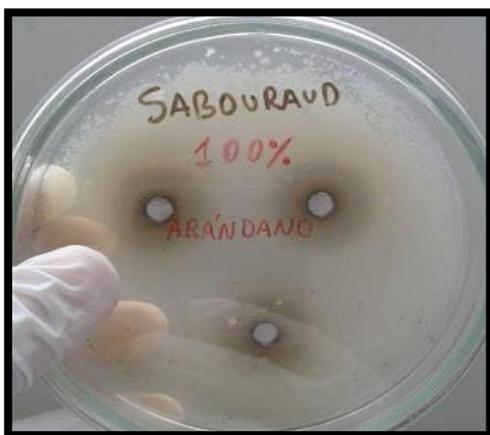


Ilustración 10. Resultados. Dilución al 100%. Halos de inhibición. Disco 1. 14,00mm. Disco 2. 15,13mm. Disco 3. 14,01mm. Vista anterior y posterior



Ilustración11. Resultados. Control (Fluconazol 25ug). Disco 1. 18,00mm. Disco 2. 17,00mm. Disco 3. 17,00mm.

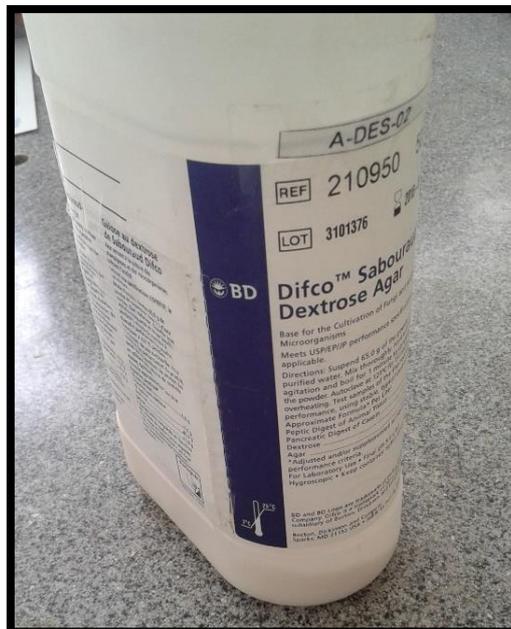


Ilustración12. Agar Dextrosa Sabouraud



Ilustración13. Área de incubación de mohos y levaduras



Ilustración 14. Autoclave vertical

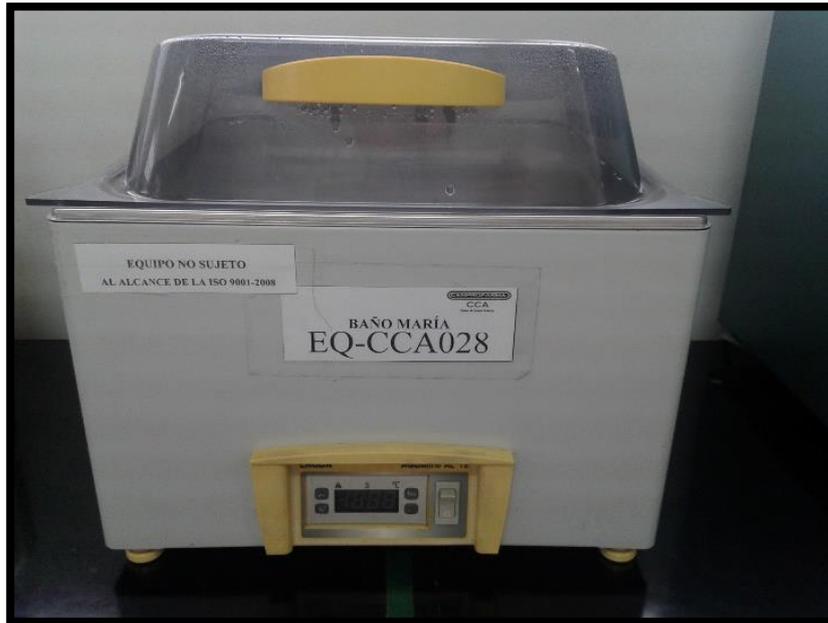


Ilustración 15. Baño María



Ilustración 16. Tesistas en el ingreso del centro de control analítico – CCA UNMSM Facultad de Farmacia y Bioquímica CENTROFARMA.

ANEXO 9: Certificado Antimicótico



FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA
CENPROFARMA
CENTRO DE CONTROL ANALÍTICO - CCA



PROTOCOLO DE ANÁLISIS N.º00363-CPF-2018

ORDEN DE ANÁLISIS : 04970/2018
SOLICITADO POR : JHONATAN TANBINI PÉREZ
MUESTRA : ARÁNDANO
NÚMERO DE LOTE : ---
CANTIDAD : 01 bolsa x 250g
FECHA DE RECEPCIÓN : 02 de Julio del 2018
FECHA DE FABRICACIÓN : ---
FECHA DE VENCIMIENTO : ---

Microorganismo	DIÁMETROS DE INHIBICIÓN EN MILÍMETROS				
	Fluconazol	Blanco	50%	75%	100%
<i>Candida albicans</i>	18	6	10	12	14
ATCC 10231	17	6	10	12	15
	17	6	9	12	14

*El tamaño de los pocillos es de 6mm, por lo tanto cuando se reporta 6mm indica que no hay formación de halo de inhibición.

*Concentración del inóculo: 1×10^8 UFC/mL

Lima, 13 de Agosto del 2018

QF. Gustavo Guerra Brizuela
Director del Centro de Control Analítico



"FARMACIA ES LA PROFESIÓN DEL MEDICAMENTO, DEL ALIMENTO Y DEL TÓXICO"

Av. Puno N° 1092 Jardín Botánico Lima 1 - Perú
☎ (511) 619-7000 anexo 4824 ☑ Ap. Postal 4559 - Lima 1
E-mail: cca.farmacia@unmsm.edu.pe <http://farmacia.unmsm.edu.pe>

