

UNIVERSIDAD NACIONAL JORGE BASADRE GROHMANN

Facultad de Ciencias de la Salud

Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica

ACTIVIDAD ANTIMICÓTICA *in vitro* DEL EXTRACTO
HIDROALCOHÓLICO DE HOJAS DE *Persea*
americana (PALTA) FRENTE A CEPAS
DE *Candida albicans*, TACNA 2022

TESIS

Presentada por:

Bach. Claudia Alessandra Rivera Gonzales

Para optar el Título Profesional de:

QUÍMICO FARMACÉUTICO

TACNA - PERÚ

2023

UNIVERSIDAD NACIONAL JORGE BASADRE GROHMANN

Facultad de Ciencias de la Salud

Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica

ACTIVIDAD ANTIMICÓTICA *in vitro* DEL EXTRACTO
HIDROALCOHÓLICO DE HOJAS DE *Persea*
americana (PALTA) FRENTE A CEPAS
DE *Candida albicans*, TACNA 2022

TESIS

Presentada por:

Bach. CLAUDIA ALESSANDRA RIVERA GONZALES

Para optar el Título Profesional de:

QUÍMICO FARMACÉUTICO

Aprobada por UNANIMIDAD, ante el siguiente jurado



Mgr. Juan Carlos Efraín Cervantes Zegarra
Presidente



Mgr. Orlando Agustín Rivera Benavente
Miembro



Mgr. Mónica Karina Chipana Flores
Miembro



Mgr. Mónica Karina Chipana Flores
Asesor

CERTIFICADO DE SIMILITUD

Yo, **MÓNICA KARINA CHIPANA FLORES**, en mi condición de asesor acreditado por la Resolución de Facultad N° 11298-2022-FACS/UNJBG, de la tesis de investigación titulada: **ACTIVIDAD ANTIMICÓTICA *in vitro* DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE HOJAS DE *Persea americana* (PALTA) FRENTE A CEPAS DE *Candida Albicans*, TACNA 2022.** Presentado por la bachiller **Claudia Alessandra Rivera Gonzales** para optar el título profesional de **QUÍMICO FARMACÉUTICO**.

Habiendo cumplido con lo establecido en el reglamento de originalidad y de similitud de trabajos de investigación y producción intelectual, considerando que según la revisión, evaluación y análisis realizado a través del software de similitud textual **TURNITIN**, cuenta con el nivel de similitud permitido cuyo porcentaje es de **10 %**.

Por lo que **CERTIFICO LA SIMILARIDAD** de la tesis enunciado líneas arriba, la cual está expedita para continuar con los trámites para la obtención de Título Profesional de Químico Farmacéutico, según corresponda consiguientemente la publicación en el repositorio institucional.



Mgr. Q.F. Mónica Karina Chipana Flores
DNI: 00493167



Bach. Claudia Alessandra Rivera Gonzales
DNI: 71396033



DEDICATORIA

A Dios, por ser mi faro y fortaleza en este viaje académico.

A mis padres, Armida Gonzales y Adolfo Rivera, por su constante apoyo, sacrificios invaluable y enseñarme el valor de la perseverancia y esfuerzo.

A mi hermano, Christian Rivera, cómplice en esta travesía, brindándome ánimo y apoyo cuando más lo necesitaba.

A Luis Fernández, compañero y amigo incondicional con quien compartí risas, desafíos y triunfos en este camino.

Esta tesis es el fruto de un viaje lleno de aprendizaje y crecimiento, por lo cual quiero dedicársela a cada uno de ustedes.

AGRADECIMIENTO

A mi asesora Mgr. Mónica Chipana Flores quiero agradecerle por su paciencia. Su orientación y consejos que me guiaron en el transcurso de este estudio.

Al Mblgo. Edwin Obando Velarde agradezco su compromiso y pasión por la enseñanza en el transcurso del trabajo.

A Raul Cueva por brindarme su sincera amistad y compañía durante esta aventura académica.

Sus contribuciones han sido esenciales para la culminación y éxito de este trabajo.

INDICE

DEDICATORIA.....	iv
AGRADECIMIENTOS.....	v
ÍNDICE DE TABLAS.....	ix
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xi
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xiii
RESUMEN.....	xiv
ABSTRACT	xv
INTRODUCCIÓN.....	1
CAPÍTULO I.....	3
PLANTEAMIENTO DE LA INVESTIGACIÓN.....	3
1.1. DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA.....	3
1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	5
1.2.1. Problema principal	5
1.2.2. Problemas secundarios	5
1.3. JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA DE LA INVESTIGACIÓN	6
1.4. ALCANCES Y LIMITACIONES.....	8
1.5. OBJETIVOS.....	9
1.5.1. Objetivo general.....	9
1.5.2. Objetivos específicos	9

1.6.	HIPÓTESIS	10
1.7.	VARIABLES	10
1.7.1.	Variable independiente	10
1.7.2.	Variable dependiente	11
1.7.3.	Operacionalización de las variables	12
	CAPÍTULO II.....	14
	MARCO TEÓRICO	14
2.1.	ANTECEDENTES DEL ESTUDIO.....	14
2.2.	BASES TEORICAS	22
2.3.	DEFINICIÓN DE TÉRMINOS.....	48
	CAPÍTULO III.....	52
	MARCO METODOLÓGICO.....	52
3.1.	TIPO Y DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN.....	52
3.1.1.	Tipo de investigación	52
3.1.2.	Diseño de investigación	52
3.1.3.	Nivel de investigación	52
3.2.	POBLACIÓN Y MUESTRA.....	53
3.2.1.	Población.....	53
3.2.2.	Muestra.....	53
3.2.3.	Criterios de selección.....	53

3.3. TÉCNICAS, INSTRUMENTOS Y MÉTODOS PARA LA RECOLECCIÓN DE DATOS	54
3.4. PROCESAMIENTO DE DATOS.....	67
CAPÍTULO IV	68
RESULTADOS	68
DISCUSIÓN.....	83
CONCLUSIONES	88
RECOMENDACIONES.....	89
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	90
ANEXOS.....	106

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.	Actividad antimicótica <i>in vitro</i> del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Persea americana</i> (palta) frente a <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 mediante la técnica de difusión de discos Kirby Bauer.....	68
Tabla 2.	Grado de sensibilidad del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Persea americana</i> (palta) según escala de Duraffourd y Lapraz.....	70
Tabla 3.	Estadística de Prueba T de Student para cada concentración del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Persea americana</i> (palta).	73
Tabla 4.	Actividad antimicótica <i>in vitro</i> del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Persea americana</i> (palta) frente a cepas de <i>Candida albicans</i> ATCC 10231.....	75
Tabla 5.	Determinación de la Concentración mínima inhibitoria (CMI) del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Persea americana</i> (palta) frente a cepas de <i>Candida albicans</i> ATCC 10231.....	76
Tabla 6.	Determinación de la Concentración mínima fungicida (CMF) del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Persea americana</i> (palta) frente a cepas de <i>Candida albicans</i> ATCC 10231.....	79

Tabla 7.	Ensayo fitoquímico del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Persea americana</i> (palta).....	81
-----------------	---	----

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Actividad antimicótica in vitro del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Persea americana</i> (palta) frente a <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 mediante la técnica de difusión de discos Kirby Bauer.....	69
Figura 2.	Grado de sensibilidad del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Persea americana</i> (palta) según escala de Duraffourd y Lapraz.....	71
Figura 3.	Determinación de la Concentración mínima inhibitoria (CMI) del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Persea americana</i> (palta) frente a cepas de <i>Candida albicans</i> ATCC 10231.....	78
Figura 4.	Determinación de la Concentración mínima fungicida (CMF) del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Persea americana</i> (palta) frente a cepas de <i>Candida albicans</i> ATCC 10231.....	80
Figura 5.	Ensayo fitoquímico del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Persea americana</i> (palta).....	82
Figura 6.	<i>Persea americana</i> (palta).....	108
Figura 7.	Molienda y maceración de las hojas de <i>Persea americana</i> .	109
Figura 8.	Filtración y conservación de extracto hidroalcohólico.....	109
Figura 9.	Marcha fitoquímica.....	110
Figura 10.	Obtención del principio activo de <i>Persea americana</i>	111

Figura 11. Preparación de la solución madre	111
Figura 12. Activación de Cepa <i>Candida Albicans</i> ATCC 10231	112
Figura 13. Preparación del inóculo micótico.....	113
Figura 14. Siembra del inóculo micótico por diseminación	113
Figura 15. Control positivo y control negativo	113
Figura 16. Halos de inhibición a concentraciones de 15,0 mg/ml; 16,875 mg/ml; 18,75 mg/ml	114
Figura 17. Halos de inhibición a concentraciones de 20,625 mg/ml y 22,5 mg/ml.....	115
Figura 18. Verificación de turbidez del inóculo micótico a 0.5 de escala de McFarland.....	116
Figura 19. Preparación de 12 tubos de ensayo con Caldo BHI, inóculo micótico y extracto hidroalcohólico.....	116
Figura 20. Resultado de la CMI, el cual se ubicó en el tubo de ensayo 6	117
Figura 21. Las 3 primeras concnetraciones que no mostraron turbidez en la determinación de CMI	118
Figura 22. Siembra de los tubos 6, 7 y 8.....	118
Figura 23. CMF para <i>Candida albicans</i>	119

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1.	Matriz de consistencia.....	107
Anexo 2.	Recolección de material botánico.....	108
Anexo 3.	Obtención del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Persea americana (palta)</i>	109
Anexo 4.	Análisis Fitoquímico del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Persea americana (palta)</i>	110
Anexo 5.	Obtención de la solución madre	111
Anexo 6.	Determinación de la sensibilidad antimicótica por el método de difusión de disco (Kirby Bauer)	112
Anexo 7.	Determinación de la Concentración mínima inhibitoria (CMI)	116
Anexo 8.	Determinación de la Concentración mínima fungicida (CMF)	118
Anexo 9.	Certificado de identidad botánica	120
Anexo 10.	Informe del análisis fitoquímico del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Persea americana (palta)</i>	121

RESUMEN

La presente investigación evalúa la actividad antimicótica *in vitro* del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Persea americana* (palta) frente a cepas de *Candida albicans*. El diseño de investigación fue no experimental, aplicada, prospectivo y exploratorio constituido por seis tratamientos con ocho repeticiones. Se utilizó el método de maceración para extraer los compuestos bioactivos de una solución hidroalcohólica. La actividad antimicótica se determinó mediante la técnica Kirby Bauer utilizando discos impregnados con diversas concentraciones del extracto. La susceptibilidad se cuantificó midiendo las zonas de inhibición del crecimiento; la Concentración mínima inhibitoria (CMI) se obtuvo realizando diluciones seriadas en medio líquido mientras que la Concentración mínima fungicida (CMF) mediante cultivo en medio sólido. Los hallazgos evidenciaron que el extracto hidroalcohólico obtenido de *Persea americana* ejerce un efecto inhibitorio frente a *Candida albicans* a 20,625 mg/ml la cual produjo 15,37625 mm de halo de inhibición, cumpliendo así la sensibilidad límite (≥ 14 mm) según la escala de Duraffourd y Lapraz. Obteniéndose como CMI a 20,835 mg/ml mientras que la CMF a 21,669 mg/ml. Se concluye que el extracto hidroalcohólico de *Persea americana* presenta actividad antimicótica frente a *Candida albicans*.

Palabras claves: *Candida albicans*, *Persea americana*, CMI, CMF.

ABSTRACT

The present investigation evaluates the in vitro antifungal activity of the hydroalcoholic extract of the leaves of *Persea Americana* (Avocado) against strains of *Candida albicans*. The research design was non-experimental, applied, prospective and exploratory, consisting of six treatments with eight repetitions. The maceration method was used to extract the bioactive compounds in a hydroalcoholic solution. The antifungal activity was determined by the Kirby Bauer technique using discs impregnated with various concentrations of the extract. Susceptibility was quantified by measuring the zones of growth inhibition; the Minimum inhibitory concentration (MIC) was obtained by performing serial dilutions in liquid medium while the Minimum fungicidal concentration (MFC) was obtained by cultivation in solid medium. The findings showed that the hydroalcoholic extract obtained from *Persea americana* exerts an inhibitory effect against *Candida albicans* at 20,625 mg/ml which produced 15,37625 mm of inhibition zone, thus meeting the limit sensitivity (≥ 14 mm) according to the Duraffourd and Lapraz scale. Obtaining the MIC at 20,835 mg/ml while the CMF at 21,669 mg/ml. It is concluded that the hydroalcoholic extract of *Persea Americana* presents antifungal activity against *Candida albicans*.

KEYWORDS: *Candida albicans*, *Persea americana*, CMI, CMF.

INTRODUCCIÓN

El territorio peruano alberga una extensa variedad de flora con propiedades terapéuticas, las cuales son aprovechadas por los indígenas y ancianos de las comunidades empíricamente debido a sus grandiosos efectos curativos que contribuyen tanto a la prevención de enfermedades como a la recuperación del bienestar físico. Mientras que solo una pequeña cantidad de especies ha sido estudiada para verificar las posibles aplicaciones farmacológicas. (1)

Las plantas medicinales son organismos del reino vegetal que se caracterizan por contener compuestos bioactivos con efectos farmacológicos, ya sean favorables como nocivas para la salud, ya que poseen principios activos como flavonoides, quinonas, taninos, esteroides entre otros, que ayudan en la prevención, tratamiento de enfermedades. En la fabricación de una variedad de preparados medicinales, se emplean distintos componentes anatómicos de estas especies vegetales como las raíces, tallos y hojas. Varios estudios han evidenciado que los extractos derivados de plantas podrían ser una opción viable para combatir infecciones bacterianas y micóticas. (2)

La *Persea americana* forma parte de la familia Laurácea, comprende 52 géneros y aproximadamente 3500 especies, siendo uno de los grupos más ancestrales dentro de las plantas con flores de dos cotiledones. Los principales centros de distribución de esta familia son el Sudeste asiático y América tropical. (3)

La *Candida albicans* es la especie que se destaca como el patógeno más común, con una incidencia creciente de infecciones atribuidas a este microorganismo. Las infecciones ocasionadas por esta levadura representan un desafío continuo porque son oportunistas y debido a su prevalencia, tienden a desarrollar resistencia a diversos antibióticos como una medida defensiva. (4)

Esta investigación tiene como propósito principal evaluar la actividad antimicótica del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Persea americana* (palta), frente a *Candida albicans* y poder considerarlo como una opción terapéutica alternativa.

CAPÍTULO I

PLANTEAMIENTO DE LA INVESTIGACIÓN

1.1. DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA

En la actualidad, la población mundial se está expandiendo rápidamente, dando lugar al correspondiente aumento de enfermedades. Esto incluye enfermedades infecciosas resultantes de virus, hongos, bacterias y otros patógenos. Este fenómeno se evidencia en el incremento de casos de infecciones invasivas por *Candida* observado en los últimos años, convirtiendo actualmente a la *Candida albicans* como uno de los patógenos más frecuentes, capaz de proliferar en la superficie de la piel y en las mucosas (incluyendo el tracto digestivo, cavidad oral y zona vaginal) provocando infecciones micóticas. Como consecuencia, se estima que entre el 5 % y el 10 % de las consultas en dermatología se deben a afecciones causadas por infecciones en la piel y las mucosas. (5)

Además, el conocimiento de la resistencia bacteriana a los antibióticos se remonta a más de 50 años. Si bien la resistencia a los hongos era poco común en la década de los 80, en años recientes se ha observado un incremento significativo en los casos de fracaso

terapéutico en micosis en todo el mundo. Resaltando la importancia de encontrar nuevos compuestos con propiedades antifúngicas. (6)

En el ámbito de las plantas medicinales se conoce que contienen numerosos compuestos que pueden tener efectos beneficiosos o perjudiciales para los organismos vivos, debido a los principios activos presentes como flavonoides, alcaloides, taninos, esteroides y otros, que contribuyen en la prevención y tratamiento de enfermedades. No contando muchas de estas plantas medicinales con investigaciones farmacológicas que respalden las acciones terapéuticas frente a diversas patologías. (1)

La *Persea americana* presenta diversos principios activos en su semilla, hojas y fruto, atribuyéndosele así propiedades antioxidantes, analgésicas, antibacterianas según referencias científicas. Sin embargo, se ha investigado poco sobre su actividad antimicótica, lo cual fue el propósito principal de este estudio. Por eso, existe un interés en comprender el potencial medicinal de esta planta.

Por lo tanto, teniendo en cuenta también la problemática mencionada se investigó la actividad antimicótica del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Persea americana* frente a cepas de *Candida albicans*.

1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

1.2.1. Problema principal

¿Tiene actividad antimicótica *in vitro* del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Persea americana* (palta) frente a cepas de *Candida albicans* ATCC 10231, Tacna 2022?

1.2.2. Problemas secundarios

¿Cuál será la actividad antimicótica *in vitro* del extracto hidroalcohólico de *Persea americana* (palta) frente a cepas de *Candida albicans* ATCC 10231, Tacna 2022?

¿Cuál será la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del extracto hidroalcohólico obtenido de las hojas de *Persea americana* (palta) frente a cepas de *Candida albicans* ATCC 10231, Tacna 2022?

¿Cuál será la Concentración Mínima Fungicida (CMF) del extracto hidroalcohólico obtenido de las hojas de *Persea americana* (palta) frente a cepas de *Candida albicans* ATCC 10231, Tacna 2022?

¿Cuáles serán los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Persea americana* (palta), Tacna 2022?

1.3. JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA DE LA INVESTIGACIÓN

Recientemente, se viene evidenciado el incremento significativo de la capacidad de *Candida albicans* para evadir los efectos de los medicamentos antimicóticos que frecuentemente se usan en su tratamiento. Este fenómeno supone un desafío significativo para el bienestar colectivo ya que dificulta la efectividad de los tratamientos y aumenta la morbilidad asociada a las infecciones fúngicas.

Por lo cual es esencial la búsqueda de alternativa terapéuticas que resulten efectivas además de seguras para tratar esta patología. Esto se manifiesta en la actualidad con los estudios centrados en aceites esenciales y diversos extractos de las plantas. Habiendo en nuestro país una gran diversidad cultural y biológica, caracterizado por el uso tradicional de sus plantas medicinales, que son aprovechadas por comunidades por sus beneficios terapéuticos.

Entre las plantas empleadas encontramos a la *Persea americana* (palta), la cual ha mostrado un gran potencial debido a sus propiedades farmacológicas de sus diferentes partes, incluso sus hojas. Cultivándose en numerosos países con temperaturas moderadas y cálidas, siendo el Perú uno de los países donde se produce. Siendo los diversos microclimas del país, específicamente

en nuestra región los que brindan condiciones adecuadas para el cultivo de la *Persea americana*.

Sin embargo, a pesar de los estudios existentes, la actividad antimicótica de esta planta aún no ha sido muy explorada. Por lo cual el objetivo de la investigación es contribuir al conocimiento científico brindando información válida y confiable sobre la actividad antimicótica del extracto hidroalcohólico *in vitro* de las hojas de *Persea americana* (palta) y simultáneamente proporcione fundamentos para que se desarrollen estrategias terapéuticas innovadoras para el tratamiento de *Candida albicans*.

1.4. ALCANCES Y LIMITACIONES

1.4.1. Alcances

- La investigación se orientó hacia la actividad antimicótico del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Persea americana* (palta) frente a *Candida albicans*. Se investigó la viabilidad de que estos componentes proporcionen una opción terapéutica accesible para la población.

1.4.2. Limitaciones

- La recolección de las hojas de *Persea americana* (palta) se vio limitado debido a que se tuvo que localizar un cultivo adecuado para la investigación y obtener el permiso del dueño para su ingreso.
- La escasa información bibliográfica limitó la capacidad de contextualizar, y validar los hallazgos en un marco más amplio.
- El acceso a los laboratorios fue dificultado debido a su mantenimiento y remodelación.

1.5. OBJETIVOS

1.5.1. Objetivo general

Evaluar la actividad antimicótica *in vitro* del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Persea americana* (palta) frente a cepas de *Candida albicans* ATCC 10231, Tacna 2022.

1.5.2. Objetivos específicos

Determinar la actividad antimicótica *in vitro* del extracto hidroalcohólico de *Persea americana* (palta) frente a cepas de *Candida albicans* ATCC 10231, Tacna 2022.

Determinar la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del extracto hidroalcohólico obtenido de las hojas de *Persea americana* (palta) frente a cepas de *Candida albicans* ATCC 10231, Tacna 2022.

Determinar la Concentración Mínima Fungicida (CMF) del extracto hidroalcohólico obtenido de las hojas de *Persea americana* (palta) frente a cepas de *Candida albicans* ATCC 10231, Tacna 2022.

Identificar los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Persea americana* (palta), Tacna 2022.

1.6. HIPÓTESIS

Hipótesis alterna

El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Persea americana* (palta) si presenta actividad antimicótica frente a cepas de *Candida albicans* ATCC 10231.

Hipótesis nula

El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Persea americana* (palta) no presenta actividad antimicótica frente a cepas de *Candida albicans* ATCC 10231.

1.7. VARIABLES

1.7.1. Variable independiente

Extracto hidroalcohólico de las hojas de *Persea americana* (palta)

Indicadores

- Diámetro de halo de inhibición según Escala de Duraffourd
- Concentración del extracto hidroalcohólico: 13,125 mg/ml; 15 mg/ml; 16,875 mg/ml; 18,75 mg/ml; 20,625 mg/ml; 22,5 mg/ml.

Escala de medición:

- Cualitativa
- Cuantitativa

1.7.2. Variable dependiente

Actividad antimicótica

Agente patógeno micótico: *Candida albicans* ATCC 10231

Indicadores

Crecimiento micótico de *Candida albicans*

Escala de Medición

- Turbidez
- UFC

1.7.3. Operacionalización de las variables

VARIABLE INDEPENDIENTE	DEFINICION CONCEPTUAL	DEFINICION OPERACIONAL	DIMENSIONES	INDICADORES	TIPO DE VARIABLE	ESCALA
Extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Persea americana</i> (palta)	Inhibición del crecimiento micótico debido al extracto hidroalcohólico, que constituye un método eficiente para extraer y concentrar los principios bioactivos producidos por las plantas.	Formación del halo de inhibición debido al extracto hidroalcohólico	Diámetro de halo de inhibición según Escala de Duraffourd	Nula (-) Sensible límite (+) Muy sensible (++) Sumamente sensible (+++)	Cualitativo	Nominal
			Concentración	13,125 mg/ml 15 mg/ml 16,875 mg/ml 18,75 mg/ml 20,625 mg/ml 22,5 mg/ml		

VARIABLE DEPENDIENTE	DEFINICION CONCEPTUAL	DEFINICION OPERACIONAL	DIMENSIONES	INDICADORES	TIPO DE VARIABLE	ESCALA
Actividad antimicótica Agente micótico patógeno <i>Candida albicans</i> ATCC 10231	Proceso a través del cual se reduce o detiene su crecimiento, afectando su capacidad para sobrevivir. Hongo oportunista causante de infecciones conocidas como candidiasis.	Activación de la cepa e incubación a 37°C por 24 horas para observación de colonias.	Halos de inhibición	Diámetro en milímetros (mm)	Cuantitativo	Nominal
			Concentración Mínima inhibitoria (CMI)	Turbidez		
			Concentración Mínima Fungicida (CMF)	UFC		

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. ANTECEDENTES DEL ESTUDIO

2.1.1. Antecedentes internacionales

En Ecuador, Iglesia D. et al, se desarrolló el estudio “Estudio fitoquímico preliminar y actividad antioxidante de un extracto acuoso de hoja de aguacate (*Persea americana Mill.*)” (2021). El extracto líquido se preparó utilizando la técnica de reperlación. Las fracciones se sometieron a cromatografía en capa fina usando gel de sílice. La fase móvil que se utilizó fue ácido acético, butanol y agua. Entre los diversos compuestos identificados; se destacaron los polifenoles. Se reportó que su concentración fue de 3950 mg/L. (7)

En África, Makopa M. et al, se desarrolló el estudio “Efectos antibacterianos, antifúngicos y antidiabéticos de extractos de hojas de *Persea americana Mill.* (Lauráceas)” (2020). Se evaluó la actividad antibacteriana frente a *Klebsiella pneumoniae* y *Staphylococcus epidermidis* mientras que el efecto antifúngico frente a *Candida tropicalis*. El método que se utilizó fue microdilución en caldo. El extracto que demostró ser el más efectivo fue el de acetona frente a *Staphylococcus epidermidis* exhibiendo CMI de

50 µg/mL. La *Candida tropicalis* mostró mayor susceptibilidad hacia los extractos de *Persea americana* con 8% de viabilidad celular mínima, cuando se expuso al extracto de metanol. Demostrándose que los extractos derivados de las hojas de *Persea americana* tienen propiedades antibacterianas contra *S. epidermidis* y los extractos tienen actividad fungistática contra *Candida tropicalis*. (8)

En Brasil, Cosmo J. et al, se desarrolló el estudio “Uso de los productos naturales de las hojas del árbol fructífero *Persea americana* frente a *Candida sp.* biopelículas utilizando discos de resina acrílica” (2020). Esta investigación busco determinar los componentes químicos del extracto de hojas de *Persea americana* y evaluar su efecto antifúngico. Esto se llevó a cabo mediante un ensayo de sensibilidad para estimular el desarrollo de biopelículas en superficies de resina acrílica cuantificando su desarrollo utilizando el método de reducción de sal de tetrazolio (MTT). Se lograron identificar diez de los doce componentes del extracto. Registrándose una CMI de 512 µg/mL. (9)

En México, Guillén H. et al, se desarrolló el estudio “Identificación de nuevos metabolitos secundarios en *Persea americana Miller* variedad *Drymifolia*” (2019). En el cual se determinó la composición química de 54 muestras de *Persea*

americana Mill var. *Drymifolia*, recolectadas en la región productora de palta en Michoacán. Identificándose 47 metabolitos secundarios, incluyendo a 16 que no habían sido documentados previamente en las hojas de esta planta. Entre los compuestos identificados en todas las muestras se encuentran el estragol, cariofileno, heptacosano, β -pineno, ácido hexadecanoico y α -tocoferol. Destacando el estragol, conocido por sus propiedades antifúngicas, insecticidas y genotóxicas, debido a su elevada concentración de 26,53%, respecto al total. (10)

En Nigeria, Ajayi O. et al, se desarrolló el estudio “Evaluación de la potencia antibacteriana y la detección fitoquímica de extractos de hojas de *Persea americana* sobre aislados bacterianos y fúngicos seleccionados de importancia clínica” (2017). En donde los extractos mostraron diferentes actividades antimicrobianas contra todos los organismos de prueba evidenciando zonas de inhibición que oscilaron entre 10,27 mm y 34,20 mm. Los extractos de hojas fueron efectivos frente a todos los organismos; siendo el extracto metanólico de *Persea americana* el que tuvo la mayor actividad antibacteriana (34,20 mm) mientras que el extracto acetónico tuvo la mayor actividad antifúngica (12,60 mm). En el estudio fitoquímico se

identificaron alcaloides, taninos, flavonoides, terpenoides y saponinas. (11)

En Brasil, Jesús D. et al, se desarrolló el estudio “Extracto glicólico de *Persea americana*: estudio *in vitro* de la actividad antimicrobiana contra biopelículas de *Candida albicans* y evaluación de citotoxicidad” (2015). La CMI se llevó a cabo mediante la microdilución en caldo, analizando concentraciones del extracto glicólico de las hojas de *Persea americana* (200 mg/ml, 100 mg/ml, 50 mg/ml, 25 mg/ml y 12,5 mg/ml) con una exposición de 5 min a biopelículas maduras en microplacas por 48 horas. Se determinó que se exhibió CMI a 6,25 mg/ml mientras que a concentración de 12,5 mg/ml se erradicó completamente los cultivos planctónicos. Las biopelículas, experimentaron una disminución notable a 50, 100 y 200 mg/ml. Se demostró viabilidad celular por encima del 55% a concentraciones de 12,5; 25 y 50 mg/ml. (12)

En Ecuador, Chunga A, se desarrolló el estudio “Determinación de la acción antimicótica *in vitro* de un gel elaborado a partir del *Aloe vera* y *Persea americana* en la Universidad de Guayaquil” (2014). Se extrajo el gel del *Aloe vera* mecánicamente con un cuchillo mientras que el aceite de la semilla del aguacate se

extrajo utilizando el método Soxhlet. La cromatografía de capa delgada de lípidos reveló que el ácido oleico fue el ácido graso insaturado predominante. Se empleó el método de difusión en agar para evaluar tres formulaciones, destacándose la formulación 3 con un halo de inhibición de 20 mm. La evaluación organoléptica del gel antimicótico mostró que era homogéneo, libre de grumos y con textura untuosa, resultando una alternativa natural para el tratamiento de la dermatitis del pañal. (13)

En India, Mohammad S, se desarrolló el estudio “El perfil fitoquímico y farmacológico de *Persea americana* Mill”. (2010) En esta revisión se estudió los diferentes aspectos de *Persea americana* Mill. Siendo esta planta utilizada en la medicina ancestral en caso de hipertensión, dolor de estómago, bronquitis, diarrea, diabetes, antioxidante, antiviral, antibacterial. Se reportó, ácido abscísico glicosilado, b-galactósido, alcaloides, peptona, celulosa, poliuronoides, citocromo P450, presencia de aceites esenciales en esta planta. (14)

2.1.2. Antecedentes nacionales

En Ayacucho, Conde H. et al, se desarrolló el estudio “Efecto antifúngico del extracto hidroalcohólico de las semillas de *Persea americana* Mill “palta hass” sobre *Candida albicans* ATCC 90028” (2022). Como resultado se observó que a 100, 750 y 500 mg/ml, se obtuvieron halos de inhibición de 12,0 mm; 11,0 mm y 9,2 mm, respectivamente. Frente a *Candida albicans* ATCC 90028 se obtuvo una CMI de 18,75 mg/ml y CMF de 37,5 mg/ml. (15)

En Lima, Cruz J. et al, se desarrolló el estudio “Efecto antimicótico del extracto etanólico de las hojas secas de *Laurus nobilis* (Laurel) en cepas de *Candida albicans*, *in vitro*” (2018). El método usado fue difusión de disco. La muestra fue el extracto etanólico a diferentes concentraciones, realizándose repeticiones para cada tratamiento. Se obtuvo como resultado que a una concentración de 100% presentó halo de inhibición de 25 mm, que fue categorizado como muy sensible. Mientras que a 50% se evidenció actividad antimicótica moderada, categorizado como sensible, teniendo como halo de inhibición de 15,33 mm y a 25% presentó halo de inhibición de 10,33 mm. (6)

En Lima, Canaza M, se desarrolló el estudio “Efecto antifúngico del extracto etanólico de la semilla de *Persea americana* (palta) en cepas de *Trichophyton rubrum*, *in vitro*” (2018). Se identificaron los metabolitos mediante análisis fitoquímico encontrando compuestos fenólicos, taninos, lactonas, saponinas, y azúcares reductores. Se empleó el método de difusión en discos para el análisis, realizando tres repeticiones para cada tratamiento y se utilizó Terbinafina a 0,3 mg/ml como grupo control. Resultando que a 100%, 50% y 20 % se producen los siguientes halos de inhibición 29,43 mm; 25,02 mm y 23,63 mm. (5)

En Trujillo, Mantilla J, se desarrolló el estudio “Efecto antimicótico *in vitro* del extracto hidroalcohólico de la semilla de *Persea americana Mill* en cepas de *Candida albicans*” (2018). Se utilizó la técnica de macrodilución y el de difusión en agar. Se obtuvo como CMI a 312,5 ug/ml, la cual no evidenció turbidez. Mientras que en la CMF de 2500 ug/ml se logró una inhibición superior al 99%. Este efecto pueda deberse a los metabolitos presentes reportados en algunos estudios fitoquímicos como los flavonoides, taninos. En los cuales el mecanismo de acción parece centrarse en la inhibición de la germinación de los conidios fúngicos. (16)

En Lima, Curo K y Herrera D., desarrollaron el estudio “Efecto antifúngico *in vitro* del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Persea americana* Mill. (palta) frente a la cepa de *Candida albicans* ATCC 10231” (2022). El material vegetal se recolectó en la provincia de Huacho y se maceró con alcohol al 70% durante 10 días. En su marcha fitoquímica hubo presencia leve (+) de flavonoides, taninos, saponinas, esteroides; y moderado (++) de compuestos fenólicos. La técnica que se usó fue el de difusión en agar, realizando agujeros con un punzón de acero. Se realizó diluciones inoculando 100 µl del extracto hidroalcohólico en el pocillo. Los resultados reportaron halos de inhibición de 6 mm, lo cual evidenció ausencia de efecto antifúngico. (17)

En Iquitos, Delgado H, se desarrolló el estudio “Actividad antibacteriana *in vitro* del extracto acuoso liofilizado de hojas de la especie *Persea americana* (palta) sobre microorganismos patógenos, ESSALUD” (2014). Los resultados demostraron que para *E. coli*, se observó una actividad del 56,35% a 200 mg/ml; y del 63,61% a 400 mg/ml y 300 mg/ml. Mientras que frente a *S. aureus*, exhibió actividad del 49,18% a 200 mg/ml y 300 mg/ml; y del 52,43% a 400 mg/ml. Se determinó que la CMI fue de 64 mg/ml para *E. faecalis*, 32 mg/ml para *E. coli* y 64 mg/ml para *S. aureus*. (18)

2.2. BASES TEORICAS

2.2.1. Actividad antimicótica

Según la literatura, se han identificado 284 compuestos con propiedades antimicóticas, clasificados en 11 categorías distintas. Entre estas categorías, los compuestos fenólicos, terpenoides y alcaloides son los más comúnmente citados, representando el 47%, 29% y 11% respectivamente. Se ha documentado que en la literatura se mencionan 123 compuestos fenólicos, 30 alcaloides y 80 terpenoides con propiedades antimicóticas. Además, se ha observado que 1064 especies de plantas, pertenecientes a 150 familias diferentes, exhiben esta capacidad antimicótica. (19)

Dado el número significativo de investigaciones en curso sobre los efectos antifúngicos de plantas, se presentará un resumen de algunos estudios relevantes. Por ejemplo, Braga y sus colegas investigaron el potencial antifúngico de veinte plantas usadas en la medicina brasileña tradicional frente a *Cryptococcus neoformans* y *Candida albicans*. De los veinte extractos metanólicos analizados, se encontró que los extractos de *Occimum gratissimum*, *Schinus terebintifolius*, *Piper aduncum* y *Cajanus cajan* demostraron ser más efectivos frente a *Candida albicans* con CMI a 1,25 mg/ml. Por otro lado, *Syzygium cumini*, *Ocimum gratissimum* y *Bixa orellana*

exhibieron una fuerte efecto frente a *Cryptococcus neoformans* con CMI a 0,078 mg/ml. (20)

De acuerdo con la investigación realizada por Ferrari y colaboradores sobre las semillas de *Persea americana*, se compararon varios extractos incluyendo el etanólico, acuoso y etéreo de manera notable el etanólico presentó una concentración superior de principios activos entre lo que se destaca los flavonoides y taninos. (16)

La capacidad del etanol para extraer compuestos lipofílicos no saponificables, que tienen una variedad de composiciones químicas y propiedades antioxidantes, explica las diferencias en las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) observadas en varios estudios. Estas diferencias se deben a la utilización de diversos tipos de extractos, como el extracto glicólico, metanólico y acuoso. (16)

Además, teniendo en cuenta que las biopelículas de *Candida* presentan un desafío particular, se han llevado a cabo investigaciones sobre la eficacia de diversos extractos vegetales sobre estas estructuras. Por ejemplo, Sardi y colaboradores recopilaron información al respecto, destacando los aceites esenciales de *Croton cajucara Benth*, que son ricos en linalol, además de los extractos de *Cassia spectabilis* y *Allium sativum*. (21)

2.2.2. Características de la Planta

A. Descripción botánica

La *Persea americana* es un árbol de tamaño grande a mediano, típicamente alcanzando alturas de 20 a 25 metros, con un tronco recto y una corteza rugosa. Su copa es globosa y acampanada, con ramas extendidas. Sus hojas, grandes y verdes, son alternas y pueden medir entre 6 y 30 centímetros de largo, formando un ramaje denso y abundante. La estructura principal de la planta se caracteriza por un tronco de forma cilíndrica, compuesto de tejido leñoso, distinguiéndose por su tendencia a formar ramificaciones y su postura vertical, con una superficie externa rugosa. Sus raíces son pivotantes con ramificaciones. Con flores de tamaño reducido, que emiten una fragancia perceptible, destacando por su coloración que combina tonos blancos con matices verdosos y un diámetro de 1 a 3 centímetros. El fruto es una drupa carnosa, de forma ovoide, a menudo con apariencia periforme, con una cáscara gruesa que varía en color de verde claro a oscuro y consta de tres partes: pulpa, corteza, semilla. La pulpa es grasosa y puede presentar tonalidades que van desde el amarillo hasta el verde. En su interior

alberga una única semilla de consistencia rígida y ovalada. Hoy en día, la palta se considera una fruta perenne, dado que se cultiva en cualquier estación del año. (22)

Aproximadamente hay alrededor de 400 variedades, lo que significa que los frutos pueden variar en forma y peso, llegando a pesar entre 150 y 350 gramos. (23)

B. Clasificación taxonómica

La *Persea americana* es parte de la familia Laurácea, que comprende 52 géneros y alrededor de 3500 especies, y se considera una de los grupos más antiguos entre las plantas con dos cotiledones. (5)

- Reino: Plantae
- División: Magnoliophyta
- Clase: Magnoliopsida
- Subclase: Magnoliidae
- Orden: Laurales
- Familia: Lauraceae
- Género: *Persea*
- Especie: *Persea americana*

C. Origen y distribución

La *Persea americana* se originó en Mesoamérica, particularmente en áreas elevadas del centro y oriente de México, así como El Salvador y Guatemala. Distribuyéndose desde México hasta Perú, abarcando Centroamérica, Colombia, Venezuela y Ecuador. (24)

Los registros iniciales redactados por los cronistas españoles mencionan el cultivo y el empleo de la palta en Ecuador, Panamá, México, Colombia, Guatemala y Perú. (25) De acuerdo con el relato de Garcilaso de la Vega, el Inca Túpac Yupanqui introdujo la palta en el sur de Perú alrededor de 1450, después de someter a la tribu palta, situada en la zona meridional de Ecuador y en el norte de Perú. (22)

Esta planta demuestra una notable versatilidad prosperando en diversos entornos geográficos, principalmente en áreas tropicales y subtropicales, si bien su producción más destacada se encuentra en América, con México como principal productor. En Perú, la palta se cultiva desde las zonas costeras hasta las regiones montañosas, alcanzando altitudes superiores a los 3000 msnm, lo cual sobrepasa las

expectativas establecidas por varias teorías sobre su rango altitudinal de distribución. (26)

Varios elementos influyen en el desarrollo del cultivo, como la temperatura, humedad, altitud, topografía y tipo de suelo. Siendo su desarrollo óptimo para estos cultivos las altitudes comprendidas entre los 400 y 1800 msnm. (27)

La planta tiene requisitos específicos para su crecimiento, incluyendo temperaturas que oscilan entre 17 y 30 grados Celsius. Las bajas temperaturas pueden afectar su desarrollo de manera significativa. Además, requiere una cantidad adecuada de agua, con precipitación anual promedio de 1200 a 2000 mm y 60% de humedad ambiental. Adaptándose mejor a zonas con inclinaciones moderadas no superiores al 30%, con una textura media y profunda, buen drenaje y un pH ácido que oscila entre 5,5 y 6,5; así como una buena cantidad de materia orgánica. (27)

D. Composición fitoquímica

Varios autores han descrito los componentes químicos presentes en la hoja de *Persea americana*, y en todos los casos los datos proporcionados son similares. (28)

Se han detectado varios metabolitos en las hojas esta planta, incluyendo esteroides, saponinas, alcaloides, antocianinas y polifenoles como, ácidos fenólicos, taninos y flavonoides. Estos compuestos desempeñan un papel crucial en los sistemas de protección de la planta, teniendo como función principal contribuir a la resistencia del organismo vegetal frente a diversas condiciones adversas. La cantidad y diversidad de estos compuestos varía considerablemente y depende de varios factores, como la edad de la planta, el tipo de tejido, suelo y hábitat, etc. (7) Las hojas de palta son la fuente principal de polifenoles, los cuales son los principales compuestos responsables de los efectos terapéuticos asociados a esta planta. (29)

Los taninos son polímeros de naturaleza polifenólica. Siendo sus grupos fenólicos hidroxilados los que confieren la propiedad de establecer enlaces complejos, su afinidad más notable es con las proteínas además en menor grado estos compuestos también demuestran capacidad para interactuar con otras entidades moleculares, entre estas se incluyen a los iones metálicos, con estructuras más grandes como los polisacáridos, así como formar complejos con aminoácidos

individuales. Estos complejos pueden obstaculizar el desarrollo o la funcionalidad de los microorganismos metanógenos y los protozoos que habitan en el rumen, ya sea eliminándolos o inhibiendo su proliferación. (30)

Los flavonoides son colorantes de origen natural presentes en los vegetales que actúan protegiendo al organismo frente a daños provocadas por agentes oxidantes, como los rayos UV y ciertos compuestos químicos que se encuentran en los productos comestibles. Debido que el organismo humano es incapaz de sintetizarlos, es necesario obtenerlos a través de la alimentación o mediante suplementos. Los flavonoides están ampliamente distribuidos en diversos productos alimenticios, incluyendo verduras, frutas y varias bebidas. (31)

Los distintos estudios indican que el follaje de la planta son una notable reserva de sustancias con una potente actividad antioxidante, como los compuestos fenólicos, los cuales tienen la capacidad de reducir los procesos oxidativos, inflamatorios y la aglutinación de las plaquetas. Es importante resaltar que la capacidad para combatir los radicales libres es más pronunciada en las hojas, la cáscara y las semillas en comparación con la pulpa. Además, se observa que los

niveles de compuestos fenólicos tienden a aumentar con el grado de maduración de la palta. (31)

La infusión obtenida a partir de la deshidratación de la cascara mostró una concentración de $123,57 \pm 4,64$ mg equivalente de ácido gálico por litro (EAG L-1) de metabolitos fenólicos y 14.09 ± 2.71 mg equivalente de quercetina por litro de flavonoides. (32) Un análisis de los componentes químicos del follaje reveló la existencia de glucósidos, taninos y alcaloides, los cuales han demostrado propiedades para combatir microorganismos. Además, se encontró que la semilla está compuesta por ácidos grasos insaturados y una cantidad significativa de tocoferol, mientras que la hoja contiene un aceite esencial abundante que incluye limoneno, alcanfor, transanetol, cineol, alfa-pineno, beta-pineno y estragol. También se identificaron neurotransmisores como la dopamina y la serotonina, así como compuestos flavonoides provenientes del del persiteol, perseita y quercetol; y la presencia de abacatina, un principio amargo. (33)

E. Propiedades medicinales

Estudios sobre las propiedades medicinales y la composición química realizados en la semilla, cáscara y pulpa de la *Persea americana* indican la existencia de compuestos que combaten microorganismos y hongos. (12)

Es notable destacar que la *Persea americana* no solo posee una amplia gama de usos medicinales en su región de origen, Mesoamérica, también en las naciones donde se ha introducido el cultivo. Descubriéndose en esta planta sustancias que protegen el hígado, además que en Cuba se vienen realizando diversos preparados homeopáticos utilizando diversas partes de la misma. Empleándose su corteza para combatir parásitos, mientras que su semilla se utiliza para eliminar lombrices intestinales. (34)

En un estudio etnobotánico realizado por Rosas-Piñón y colaboradores, se menciona que la hoja del árbol de *Persea americana* se usa en la medicina tradicional en tres regiones diferentes de México, donde se utilizan en el tratamiento de infecciones orales y para el control de caries. (35)

Investigaciones han demostrado que los extractos de semilla poseen propiedades antibacterianas. Mostrando el extracto preparado con éter de petróleo eficacia contra *Sarcina lutea* y *Staphylococcus aureus*. Por otro lado, el extracto etanólico ha demostrado actividad frente a varios patógenos, incluyendo *Enterobacter aerogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Citrobacter freundii* y *Salmonella enteritidis*. (36)

Según la investigación, se indica que los extractos de plantas contienen diversos compuestos con propiedades antimicrobianas, encontrándose a los alcaloides, estilbenos fenilpropanoides, compuestos fenólicos, terpenoides y saponinas. Se destaca que los metabolitos fenólicos, específicamente los flavonoides y fenoles, son reconocidos por su capacidad para combatir microorganismos. Además, se ha observado que estos compuestos han demostrado ser especialmente eficaces contra ciertos tipos de hongos que afectan la salud humana, en particular se destaca su acción sobre especies del género *Candida*. (37)

En investigaciones realizadas con otras especies vegetales, como en los estudios de Scavino D y colaboradores, así como Valle B y su equipo, que se enfocaron en la cepa *Candida*

albicans, concluyeron que el efecto antimicótico es debido a los flavonoides. Estos compuestos se encuentran abundantemente en numerosas especies vegetales. (16)

En una investigación del extracto acuoso obtenido del mesocarpio, se evidenció que este extracto es capaz de inhibir el crecimiento de dos especies de hongos. Se observó que frente a *Microsporum gypseum* un halo de inhibición de 31,2 mm de diámetro mientras que frente a *Microsporum canis*, un halo de inhibición de 40,5mm. (38)

F. Usos tradicionales

En el pasado, la palta ha sido ampliamente empleada no solo como alimento, sino también con fines medicinales. En varios países, sus nutrientes han sido aplicados en el desarrollo de productos tanto en la industria cosmética como en la farmacéutica. (23)

En el sistema de medicina tradicional de la india conocido como Ayurveda, la palta es comúnmente empleada para tratar diversas enfermedades como la diabetes, diarrea, bronquitis, dolor estomacal, hipertensión y menorragia. (14)

Las hojas, cáscaras y sus semillas son utilizadas en diversos propósitos. El fruto tiene un consumo extendido a nivel mundial, además su aceite está presente en muchas formulaciones cosméticas. Mientras que la pulpa se emplea como una aplicación tópica, en forma de ungüento o crema, para promover el crecimiento capilar y facilitar la cicatrización de heridas. (23)

Las semillas tostadas y el agua mezclada con su ceniza se han empleado tradicionalmente para aliviar problemas intestinales como la diarrea. Además, el aceite obtenido de las semillas mediante compresión tiene una larga historia de uso que se remonta a la antigüedad, siendo usado para el cabello seco, para abordar diversas afecciones del cuero cabelludo, aliviar dolores mediante su aplicación como ungüento y aliviar la irritación cutánea en zonas afectadas por heridas. (23)

En medicina tradicional, se aprovecha la corteza del fruto después de someterla a un proceso de secado y pulverizado como vermífugo y para tratar la disentería. La infusión de la hoja se emplea para tratar problemas dérmicos ocasionados por infecciones e inflamaciones, además de ser utilizada en el

tratamiento de varias formas de diarrea infecciosa e indigestión. (26)

El jugo extraído de la hoja se utiliza con propósitos antibióticos, mientras que su decocción se ingiere para los problemas intestinales que causan deposiciones frecuentes y líquidas, el dolor de garganta y las hemorragias. (39)

En la cocina de varios países de América, la hoja de aguacate se emplea para aromatizar sopas y guisos.

2.2.3. Características de la cepa en estudio

A. *Candida albicans*

Las características de *Candida albicans* se atribuyen a los carbohidratos complejos que conforman su envoltura celular, y esta levadura exhibe polimorfismo, y se desarrolla de manera óptima a 37 °C. (15) Los reservorios predilectos de *Candida albicans* en el organismo humano incluyen el sistema gastrointestinal, las vías respiratorias y la mucosa vaginal y constituyen una fuente significativa de candidiasis endógena. En estas áreas, *Candida albicans* actúa como saprófito, y su aislamiento no necesariamente indica la existencia de un sistema infeccioso. (40)

Candida albicans es una especie oportunista cuya gravedad de infección está determinada por el estado del huésped. En condiciones favorables, su población puede aumentar, lo que lleva a la aparición de infecciones. (41) Así, su vida útil en superficies secas es corta, pero su viabilidad se incrementa en ambientes húmedos. Se ha encontrado en cepillos de dientes, cremas de manos, productos cosméticos y prendas de vestir. (40)

B. Taxonomía

- Reino: Fungi
- División: Eumycota
- Subdivisión: Deuteromycotina
- Clase: Blastomycetes
- Familia: Cryptococaceae
- Género: *Candida*
- Especies: *C. albicans*

C. Características morfológicas

Este hongo presenta una morfología dimórfica, lo que significa que su desarrollo se modifica según los cambios en el nivel de calor ambiental. En forma de levadura, que es la forma

habitual a 37°C en el huésped, se presenta como una levadura redonda u ovalada que mide 3-8 x 2-7 micras, reunidas formando pequeños racimos que asemejan racimos. Pero cuando se presenta en su forma fúngica a una temperatura de 25°C, las células se estiran y desarrollan ramificaciones, esto les da la apariencia de hilos o filamentos. Este organismo fúngico es miembro de la división Ascomycota y se multiplica asexualmente mediante formación de nuevas células que brotan de la célula madre. (6)

El dimorfismo le permite a la *Candida albicans* evitar las respuestas inmunitarias celulares del hospedador. Cuando adopta su morfología levaduriforme, puede establecer una relación no patogénica, coexistiendo pacíficamente con su hospedador, mientras que, al adoptar su forma filamentosa, manifiesta propiedades patogénicas que puede causar enfermedades en el hospedador. (6) En un medio de cultivo, *Candida albicans* se caracteriza por el desarrollo de agrupaciones celulares de color blanco, cremosos, blandos y con una superficie uniforme y sin rugosidades. Este crecimiento se observa en agar con medios que contienen

azúcares, y las colonias pueden ser visibles después de 48 horas de incubación a 37°C. (15)

D. Epidemiología

Es la enfermedad oportunista con más frecuencia en las personas, manifestando incremento en su incidencia en las últimas dos décadas. Las levaduras representan el 7,45% de las infecciones fúngicas, causando el 25% de las infecciones fúngicas que afectan solo a la superficie de la piel. En el ámbito hospitalario, ocasionan entre el 75% y el 88% de las infecciones por hongos. (42)

Principalmente, los problemas de salud causadas por *Candida* suelen originarse endógenamente, pero también pueden transmitirse directamente entre individuos, como ocurre en casos de transferencia intrahospitalaria. La infección ocurre cuando hay un desequilibrio entre *Candida* y la microbiota del huésped, facilitando que el microorganismo se expanda y termine convirtiéndose en un agente infeccioso oportunista, provocando las manifestaciones típicas asociadas a la infección por *Candida*. (43)

Habitan comúnmente en el sistema digestivo, respiratorio y en las regiones mucocutáneas de los seres humanos y otros organismos hospederos. Se ha observado que la presencia inicial de *Candida albicans* suele establecerse en la boca y puede extenderse a lo largo del tracto digestivo hasta alcanzar el recto. También se ha encontrado que puede estar presente en la superficie cutánea, hallándose también en el área subungueal, tanto de manos como de pies. *Candida albicans* forma parte de la flora microbiana habitual de la boca, y se estima que se encuentra en aproximadamente el 25% al 50% de las personas sanas. (44)

El aparato digestivo humano alberga una cantidad reducida pero estable de *Candida albicans*. Otras especies con capacidad para invadir y establecerse en las mucosas bucal y digestiva incluyendo, *C. krusei*, *C. dubliniensis* y *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* y *C. glabrata*. En la piel sana pueden encontrarse levaduras como parte de la flora habitual que incluye, *C. krusei*, *C. guilliermondii*, *C. parapsilosis*. En condiciones normales, en la mucosa de la vagina se pueden encontrar *C. albicans* y, en menor medida, *C. krusei*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* y *C. glabrata*. (45)

E. Composición química

La composición de *Candida albicans* incluye de 20% a 40% de proteínas, y de 30% a 50% de polisacáridos, siendo la cantidad de lípidos que contiene fluctuante. La composición de lípidos está sujeta a cambios dependiendo de la cepa, el entorno y la fuente de carbono utilizada y la etapa del cultivo. La estructura externa de la célula de *Candida albicans* se constituye mayormente por azúcares complejos como quitina, manán y glucano. Sin embargo, la producción de estos elementos de la pared celular puede modificarse dependiendo de las condiciones de desarrollo y estados metabólicos. (46)

F. Patogenia

Candida albicans exhibe diversas características que contribuyen a su capacidad para causar enfermedades que le permiten establecerse en el hospedador y causar infección. Una de sus características es el dimorfismo, que es la habilidad del organismo fúngico para alternar entre un desarrollo en forma de levadura y en forma filamentosa. Esta capacidad ayuda al microorganismo a eludir las defensas del hospedador. (47)

Las infecciones superficiales pueden causar inflamación y la formación de pseudomembranas, y en situaciones más severas, pueden provocar inflamaciones cutáneas enrojecidas. Los procesos infecciosos invasivos se desarrollan cuando el patógeno ingresa a través del tracto digestivo o debido a la alteración de la barrera cutáneo-mucosa. (43)

Los factores que activan la patología suelen ser cambios en los sistemas inmunológicos del huésped, que provocan alteraciones en la conducta del microorganismo fúngico. Los síntomas y la gravedad de una infección dependen de cómo y cuánto se ven afectados las defensas del organismo. (45)

Los factores que contribuyen a la vulnerabilidad se clasifican en varios grupos:

- Factores locales: exposición prolongada al agua e higiene inadecuada.
- Factores endocrinos: como la diabetes y el hipotiroidismo.
- Aspectos relacionados con el organismo: como la edad extrema, por ejemplo, los recién nacidos y ancianos, así como el embarazo.

- Alteraciones en la microbiota del cuerpo: debido al consumo de medicamentos antibacterianos.
- Patologías sanguíneas: como cánceres del sistema linfático y de la médula ósea, anemia aplásica, agranulocitosis y agammaglobulinemia.
- Causas médicas: incluyen el uso continuo de medicamentos como corticosteroides, quimioterapia, supresores del sistema inmune, sustancias que dañan las células, operaciones abdominales, terapia con radiación, trasplantes, nutrición por vía intravenosa, cateterismo, hemodiálisis e implantes artificiales.
- Condiciones que debilitan el cuerpo: tales como la infección por VIH, quemaduras extensas y profundas, desnutrición severa, tumores, adicción a drogas, tuberculosis y otras patologías.

La infección por *Candida* en piel y mucosas es común en personas con deficiencias en sus linfocitos T, como aquellas con diabetes, SIDA u otras enfermedades endocrinas. La candidiasis invasiva, que puede ser mortal, afecta a quienes tienen el sistema inmune muy debilitado. La falta de neutrófilos es un factor clave en la candidiasis invasiva; sin

embargo, también tienen un alto riesgo los receptores de órganos trasplantados y personas con cáncer en la sangre. (42)

G. Candidiasis

La candidiasis es una afección que puede manifestarse como infección principal o como complicación secundaria, y se caracteriza por una diversidad de síntomas y signos clínicos que pueden ser agudas, subagudas, crónicas o episódicas. La especie más comúnmente asociada con esta infección es *Candida albicans*, responsable de aproximadamente el 90% de las infecciones fúngicas. (48)

Las infecciones fúngicas representan un factor significativo de enfermedad y riesgo de muerte, especialmente entre pacientes con sistemas inmunitarios comprometidos y aquellos hospitalizados debido a enfermedades graves. Dentro de las micosis, las diversas especies de *Candida* son los hongos más frecuentes, aunque son componentes habituales de la comunidad de microorganismos que residen naturalmente en el cuerpo, solo alrededor de 10 especies

tienen el potencial de causar enfermedades en los seres humanos. (49)

Las principales presentaciones clínicas de *Candida albicans* se clasifican principalmente en tres categorías:

- Candidiasis Cutánea

Las infecciones fúngicas superficiales suelen afectar áreas húmedas y pliegues corporales como manos, pies, axilas e ingle. Cuando afectan las uñas, se llama onicomycosis, o paroniquia si compromete la piel alrededor de las uñas. (50)

Las manifestaciones de las candidiasis cutáneas incluyen: Intertrigo en pliegues grandes, irritación en la zona del pañal, erosión interdigital, inflamación de los folículos pilosos, así como infección en las uñas acompañada de inflamación del tejido circundante. (51)

- Candidiasis mucocutánea

La candidiasis mucocutánea afecta principalmente la boca (muguet) y la vagina. El muguet se caracteriza por la aparición de parches blanquecinos en el interior de la boca y sobre la lengua, pudiendo fusionarse en casos severos. Al removerse,

muestran una base roja e inflamada. El diagnóstico se realiza observando pseudohifas y blastoconidios en frotis del exudado teñido con Gram. (52)

Los factores predisponentes para la candidiasis mucocutánea incluyen: desestabilización del equilibrio de los microorganismos que habitan en el cuerpo por el uso extendido de medicamentos antibacterianos y pH reducido de la saliva en recién nacidos. (53)

La candidiasis oral es un indicador de SIDA, afectando a casi todos los pacientes con esta condición. Aunque *Candida albicans* es el agente causal típico, *Candida dubliniensis*, una especie relacionada, ha emergido como predominante en muchos casos. Esto se debe a su resistencia adquirida a antifúngicos azólicos, especialmente al fluconazol. (49)

- Candidiasis sistémica

Las micosis sistémicas son infecciones fúngicas oportunistas que afectan a múltiples órganos no contiguos. Son causadas por hongos ubicuos, normalmente inofensivos en la microflora ambiental o como comensales en piel y mucosas. Estos hongos suelen ser controlados por el sistema inmune

(leucocitos y macrófagos), pero en huéspedes inmunocomprometidos, pueden causar infecciones graves. Los agentes causales son diversos hongos capaces de crecer a 37°C y nutrirse de tejidos humanos, incluyendo levaduras y hongos filamentosos. Especies comunes son *Rhizopus spp*, *Mucor spp*, *Cryptococcus spp*, *Aspergillus spp*, *Fusarium spp*, y *Candida spp*. (51)

2.2.4. Prueba de susceptibilidad a antifúngicos

Existen diversas técnicas para evaluar la respuesta de los hongos causantes de enfermedades frente a los medicamentos antifúngicos. Dos de los más utilizados en la actualidad son la técnica de difusión en agar y el método de dilución. La técnica normalizada y avalada por la NCCLS se fundamenta en el método descrito por Bauer, el cual proporciona datos cualitativos que están fuertemente correlacionados con las mediciones cuantitativas de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI). (52)

Además de este, se cuenta con otras técnicas para evaluar la efectividad a los antifúngicos, como la determinación de la Concentración Mínima fungicida (CMF), la medición de los niveles de ergosterol y el uso de citometría de flujo y la generación de curvas de letalidad. Estos métodos suelen llevarse a cabo en laboratorios altamente especializados, debido a su mayor complejidad. (51)

2.3. DEFINICIÓN DE TÉRMINOS

- 1) *Persea americana*: Es un árbol que tiene su origen en la región que abarca desde México hasta Guatemala. Dependiendo de la región, se le conoce con diversos nombres como aguacate, palta, avocado o abacate. (5)
- 2) Antimicótico: Un compuesto con la capacidad de detener la multiplicación o el desarrollo de ciertos tipos de hongos, llegando incluso a ser letal para ellos. (6)
- 3) Principios activos: Sustancias puras que generan acciones farmacológicas inherentes a una droga, siendo útiles en la producción de medicamentos. Estos componentes son relativamente estables y pueden encontrarse tanto en plantas frescas como en plantas desecadas. (5)
- 4) Extracción: La extracción consiste en aislar un compuesto soluble usando dos solventes inmiscibles, presentando distintos grados de solubilidad y están en contacto mediante una interfaz. (54)
- 5) Maceración: Método de extracción básico en donde tanto la droga como el solvente es necesario resguardarlos de la exposición lumínica para prevenir reacciones indeseadas, y se requiere una agitación constante durante el proceso. (54)

- 6) Metabolitos primarios: Son sustancias químicas esenciales para el funcionamiento de organismos vivos. (55)
- 7) Metabolitos secundarios: Compuestos químicos derivados de procesos metabólicos de vegetales, tales como los polifenoles, alcaloides, flavonoides, catequinas, antocianinas y saponinas, que se encuentran en diversas partes de la planta.(56)
- 8) Extracto hidroalcohólico: Son preparaciones que se elaboran extrayendo los componentes activos de plantas con una mezcla de alcohol y agua, resultando en una solución líquida concentrada. (57)
- 9) Cepa ATCC: Son organismos microscópicos que comparten el mismo dominio genético. (15)
- 10) *Candida albicans*: Este tipo de hongo se clasifica como oportunista debido a que es parte habitual del microbiota presente en las membranas mucosas del tracto gastrointestinal, genitourinario y en la piel. (58)
- 11) Medio de cultivo: Un medio artificial compuesto por nutrientes esenciales, que puede adoptar formas sólidas, semisólidas o líquidas, y que provee de condiciones para el desarrollo de bacterias en un entorno controlado fuera del organismo. (59)

- 12) Método Kirby-Bauer: Una técnica de evaluación de sensibilidad antimicrobiana que utiliza la técnica de difusión en medio sólido para evaluar la susceptibilidad de un microorganismo frente a un antibacteriano o agente quimioterapéutico específico. (60)
- 13) Escala McFarland: Es un método que mide la turbidez, particularmente útil para evaluar el desarrollo de microorganismos. (61)
- 14) Inóculo: Una porción de bacterias que se inocula a un medio nutritivo. (61)
- 15) Halos de inhibición: Zona en un medio de cultivo en el cual no se detecta desarrollo micótico o bacteriano después de la inoculación de microorganismos. (15)
- 16) Colonia: Conjunto de células que se desarrollan y reproducen en un medio de cultivo. Pueden tener diversas formas dependiendo del tipo y las condiciones de crecimiento. (62)
- 17) *In vitro*: Se utiliza en el contexto científico y médico para referirse a experimentos que se realizan fuera del organismo vivo, típicamente en un entorno controlado, como un tubo de ensayo, una placa de cultivo o cualquier otro recipiente de laboratorio. (63)

- 18) Discos de sensibilidad: Son pequeños discos impregnados con diferentes antibióticos o antifúngicos. Estos discos se utilizan en pruebas de sensibilidad antimicrobiana para determinar la eficacia de un agente antimicrobiano contra un microorganismo específico, como una bacteria o un hongo. (64)
- 19) Concentración mínima inhibitoria: Se refiere a la cantidad mínima de una sustancia antimicrobiana o antimicótica capaz de impedir el desarrollo visible de un microorganismo luego de un período específico de incubación. (65)
- 20) Concentración mínima fungicida: Se refiere a la concentración más baja de un fungicida con la capacidad de detener el crecimiento de un hongo específico. (65)

CAPÍTULO III

MARCO METODOLÓGICO

3.1. TIPO Y DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

3.1.1. Tipo de investigación

La investigación de este estudio es aplicada y prospectivo.

Aplicada: Porque tiene objetivos prácticos para generar cambios mediante el empleo de conocimientos teóricos.

Prospectivo: Porque los datos se anotaron conforme sucedían los hechos.

3.1.2. Diseño de investigación

El diseño de la investigación es de tipo no experimental, debido a que el investigador no manipulo las variables y porque los datos se recogieron en un momento específico.

3.1.3. Nivel de investigación

Corresponde al nivel exploratorio

3.2. POBLACIÓN Y MUESTRA

3.2.1. Población

Está constituida por la cepa liofilizada de *Candida albicans* ATCC 10231.

3.2.2. Muestra

Conformada por 20 placas petri para *Candida albicans* ATCC 10231.

3.2.3. Criterios de selección

a) Criterio inclusión

- Hojas de *Persea americana* (palta) en estado fitosanitario óptimo: sin lesiones mecánicas, sin signos de herbivoría o infecciones fúngicas.
- Cepas de *Candida albicans* ATCC 10231.

b) Criterio exclusión

- Hojas de *Persea americana* (palta) con signos de contaminación microbiana o fúngica.
- Especímenes que no correspondan a la especie *Persea americana* Mill.
- Cultivos contaminados con otros microorganismos o que muestren variación colonial atípica.

3.3. TÉCNICAS, INSTRUMENTOS Y MÉTODOS PARA LA RECOLECCIÓN DE DATOS

3.3.1. TECNICAS

En el extracto hidroalcohólico se evaluó la actividad antimicótica mediante la Técnica Kirby Bauer.

- Medio de cultivo: Agar Muller Hinton
- Inóculo: Suspensión directa de colonias
- Incubación: 37°C
- Lectura: 24 horas

Técnica para recolección de información

La lectura de medición de los diámetros de halos de inhibición utilizando como referencia la escala de Duraffourd y Lapraz (1983) se clasifica de la siguiente manera:

- Si es < 8mm: Nula
- Si es de 9 mm a 14 mm: Sensible límite
- Si es de 15 mm a 19 mm: Muy sensible
- Si es de > 20 mm: Sumamente sensible

3.3.2. MATERIALES Y/O INSTRUMENTOS

a) Equipos

- Autoclave (Marca: Chamberlain)
- Estufa (Marca: Memmert)
- Incubadora (Marca: Memmert)
- Cocina eléctrica (Marca: Ranferic)
- Balanza analítica (Marca: Kern)
- Refrigeradora (Marca: Biobase)
- Equipo vórtex (Marca: VWR)

b) Materiales de vidrio

- Tubos de ensayo de 10 ml
- Matraces de 125 ml y 500 ml
- Vasos precipitados de 300 ml
- Frascos de vidrio de 1.5 L de capacidad
- Probeta de 250 ml
- Embudos de vidrio
- Pipeta de 5 ml
- Placas Petri 10 X 100 mm

c) Medios de Cultivo

- Agar Sabouraud 2%
- Caldo Infusión Cerebro Corazón (BHI)
- Agar Papa Dextrosa
- Agar Mueller Hinton

d) Reactivos

- Alcohol de 70°
- Agua destilada
- Discos de sensibilidad

e) Otros materiales

- Micropipetas
- Pizeta de agua destilada
- Asa de Kolle
- Pinzas
- Espátulas
- Asa de digralsky
- Gradillas
- Papel Kraft
- Papel aluminio

- Papel filtro Whatman
- Algodón
- Pabilo
- Mecheros de alcohol
- Guardapolvo
- Mascarillas descartables
- Guantes y gorros descartables
- Marcadores, calculadora

3.3.3. MÉTODOS PARA RECOLECCIÓN DE DATOS

I. RECOLECCIÓN DE MATERIAL BOTÁNICO

- La recolección se realizó en una chacra de cultivos de *Persea americana* en el distrito de Pocollay del departamento de Tacna.
- Una muestra de la planta fue trasladada al Herbario Takana de la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann para realizar la evaluación y validación de su taxonomía. (ANEXO 11)
- Se recolectaron 4 kg de hojas frescas de *Persea americana*. Se seleccionó hojas no dañadas, limpias de fragmentos oscuros o atacadas por insectos u hongos. Se procedió a lavarlas y limpiarlas mecánicamente.
- Se distribuyeron las hojas sobre papel kraft y fueron dejadas a durante 30 días a temperatura ambiente. Removiéndolas cada día para conseguir un secado homogéneo.

II. OBTENCIÓN DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO

a) Macerado

- Se trituro las hojas secas con un molino manual desinfectado. Obteniéndose 684 g de hojas pulverizadas para luego macerar en una damajuana con 4 L de alcohol etílico al 70°.
- Se cerró herméticamente y se envolvió con papel aluminio, para evitar que el solvente se evapore.
- El frasco fue agitado diariamente, para que se mezcle el soluto y el solvente, durante 45 días.

b) Filtrado

- El líquido obtenido del proceso de maceración fue sometido a un filtrado doble utilizando papel filtro Whatman N° 145, obteniéndose una solución sin impurezas.
- Se vertió extracto hidroalcohólico en una placa Petri grande y fue secado en estufa a 45°C para la evaporización del alcohol.
- Para el análisis fitoquímico, una muestra del extracto hidroalcohólico fue enviada al laboratorio de cromatografía y espectrometría de la

Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, la cual fue recepcionada por el Químico Jorge Choquenaira Pari para la realización de reacciones de precipitación y coloración. (ANEXO 12)

c) Preparación de la solución madre

- Se realizó por método de dilución, para lo cual en un tubo de ensayo con tapa rosca se disolvió 1,5 g de extracto seco en 2 ml de agua destilada y se homogenizó con un Vortex. Obteniéndose como solución madre 750 mg/1000 ul.
- Para determinar las concentraciones se usaron los siguientes volúmenes 17,5 ul; 20 ul; 22,5 ul; 25ul; 27,5 ul; 30 ul. Obteniéndose 6 concentraciones a partir de la solución madre: 13,125 mg/ml; 15 mg/ml; 16,875 mg/ml; 18,75 mg/ml; 20,625 mg/ml; 22,5 mg/ml.

III. ACTIVIDAD ANTIMICÓTICA DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE *PERSEA AMERICANA* MEDIANTE EL MÉTODO DE DIFUSIÓN EN DISCOS.

a) Activación de cepa liofilizada de *Candida albicans* *ATCC 10231*

- El Agar Sabouraud se preparó pesándose 1,95 g y se disolvió en 30 ml de agua destilada, calentándolo hasta disolución para luego esterilizarlo a 121°C durante 15 minutos.
- Una siembra por estrías se efectuó en cuatro secciones. Para luego incubarlo a una temperatura de 37°C por 24 horas.
- Transcurrido este tiempo se pudo observar colonias de blancas, redondas y cremosas.

b) Preparación del inóculo micótico

- Una asada se tomó de la placa petri sembrada por estrías y se sembró en un vial con agar Papa Dextrosa incubándolo a 37°C por 24 horas, encontrándose estas cepas en actividad metabólica.

- Luego se resembró realizando un trasplante por suspensión en caldo BHI, se incubó el inóculo a 37°C por 3 horas para posteriormente compararlo con el tubo 0,5 de la escala de McFarland ($1,5 \times 10^8$ UFC).

c) Preparación de los discos de sensibilidad del extracto hidroalcohólico de *Persea americana*

- Se emplearon 48 discos, correspondientes a los 6 tratamientos con 8 repeticiones. Aplicándose los siguientes volúmenes 17,5 ul (13,125 mg/ml); 20 ul (15 mg/ml); 22,5 ul (16,875 mg/ml); 25ul (18,75 mg/ml); 27,5 ul (20,625 mg/ml); 30 ul (22,5 mg/ml). del extracto hidroalcohólico.

d) Inoculación

- Se preparó Agar Muller Hinton para que sea vertido en 20 placas petri.
- Se realizó siembra por disseminación, con una micropipeta se extrajo 100 μ l del inóculo micótico para ser vertido al centro de cada placa y se distribuyó hasta homogeneidad.

- Usando pinzas estériles se colocó los discos con el extracto hidroalcohólico sobre la superficie del Agar Mueller Hinton y para garantizar el contacto con el agar se aplicó una leve presión.
- Además, se consideró una placa conteniendo un disco esterilizado como control negativo y otra placa conteniendo Nistatina 25 µg como control positivo.

e) Incubación

- Se procedió a empaquetar las placas Petri y a incubar por 24 horas a 37°C.

f) Lectura

- Los halos de inhibición se midieron con un vernier digital y para interpretar los resultados se usó como referencia la escala de Duraffourd y Lapraz.

Nula (-)	< 8 mm
Sensibilidad limite (sensible = +)	9 a 14 mm
Sensibilidad media (muy sensible = ++)	15 a 19 mm
Sumamente sensible (S.S. = +++)	> 20 mm

IV. DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA (CMI)

Los cálculos de las diferentes concentraciones de cada tubo de ensayo se realizaron utilizando la solución madre de 750 mg/1000 ul del principio activo de *Persea americana*

a) Preparación de inóculo micótico

- Se vertió caldo BHI en un tubo de ensayo y se procedió a esterilizar. Para luego realizar un trasplante por suspensión, y después llevar a incubación a 37°C durante 24 horas.
- Transcurrido este tiempo se realizó un trasplante en agar PDA, para luego llevarlo a incubar por 24 horas a 37°C.
- Se realizó un trasplante por suspensión para luego llevarlo a incubar a 37°C por 2 horas.
- Luego de la incubación, se comparó la turbidez del inóculo micótico con el tubo 0,5 de la escala de McFarland.

b) Método de macrodilución

- Después de la preparación del inóculo micótico, se vertió la cantidad de caldo BHI correspondiente a los 12 tubos de ensayo y se esterizaron durante 15 minutos a 121°C.
- Procediendo a agregar 300 µl de inóculo micótico a cada uno de los tubos de ensayo.
- Seguidamente se agregó los volúmenes de la solución de extracto hidroalcohólico a cada tubo de ensayo respectivo.

c) Incubación y lectura

- Luego de haber preparado los 12 tubos de caldo de BHI se procedió a llevarlos a incubación a 37°C por 24 horas.
- Al realizar la lectura, se obtuvo como Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) a la concentración donde no se observa turbidez (ausencia de desarrollo micótico); dicho tubo fue el N° 6, el cual corresponde a 20,835 mg/ml.

V. DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA FUNGICIDA (CMF)

- Para esta determinación se toma los tres primeros tubos de ensayo N° 6, 7, 8 los cual no presentaron turbidez en la determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI).
- De los tubos N° 6, 7, 8 se tomó 100 ul de cada uno y con la ayuda de un asa Digralsky se realizó siembras por diseminación en las placas con el medio Mueller Hinton, para luego llevarlo a incubar a 37°C por 24 horas.
- Para la lectura de los resultados, se hizo el recuento de unidades formadoras de colonias (UFC) en cada placa.
- Observándose la Concentración Mínima Fungicida (CMF) en la placa donde se obtuvo ≤ 1 UFC/placa; la cual perteneció al tubo de ensayo N° 8, correspondiente a 21,669 mg/ml.

3.4. PROCESAMIENTO DE DATOS

Los datos se analizaron utilizando el software estadístico SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) versión 28.0. Se aplicó un enfoque estadístico descriptivo basado en las pruebas de normalidad de Shapiro-Wilk y Kolmogorov-Smirnov. Los resultados se presentaron en tablas junto a sus correspondientes representaciones gráficas. Además, se realizó la prueba de verificación de hipótesis para las diferentes concentraciones del extracto hidroalcohólico de *Persea americana* (13.125; 15; 16.875; 18.75; 20.625 y 22.5mg/ml). Utilizándose la prueba T para una muestra de un solo factor. Considerando un valor p de significancia de 0,05 a cada análisis estadístico.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS

Tabla 1. Actividad antimicótica *in vitro* del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Persea americana* (palta) frente a *Candida albicans* ATCC 10231 mediante la técnica de difusión de discos Kirby Bauer.

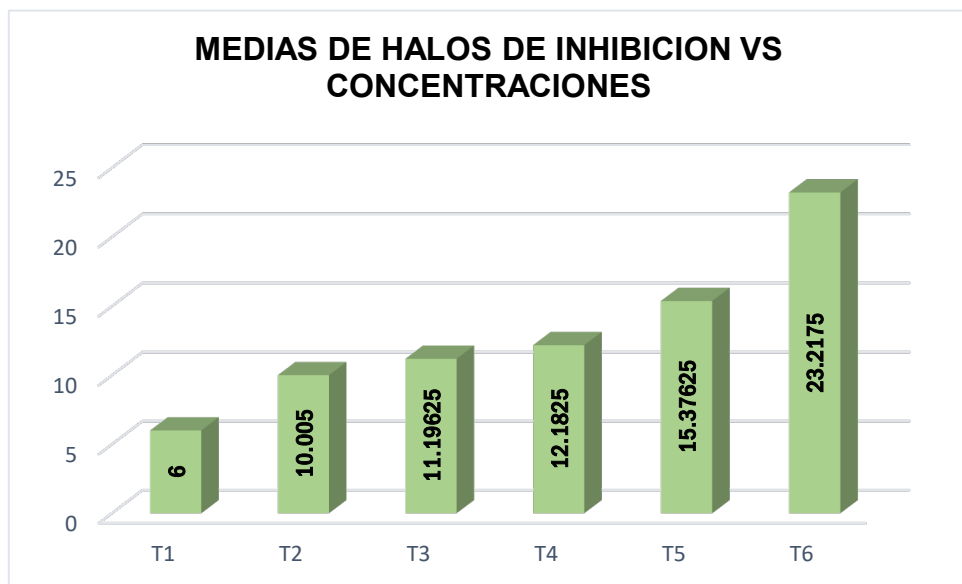
T	EXTRACTO		DIAMETROS DE LOS HALOS DE INHIBICION (MM)								MEDIAS
	VOL	[]	REPETICIONES								
	(UL)	(MG)	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	
T1	17,5	13,125	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6	< 6
T2	20	15,0	9,57	9,59	10,26	10,30	10,16	10,16	10,32	9,68	10,005
T3	22,5	16,875	10,60	11,10	11,04	11,39	11,27	11,38	11,57	11,22	11,19625
T4	25	18,75	11,93	12,09	12,11	12,29	12,67	12,59	11,70	12,08	12,1825
T5	27,5	20,625	15,03	15,17	16,23	15,70	14,87	14,78	15,81	15,42	15,37625
T6	30	22,5	25,86	24,33	24,56	23,77	23,16	21,46	21,10	21,50	23,2175

Fuente: Datos obtenidos por el investigador

INTERPRETACIÓN:

En la tabla 1 observamos los resultados de los diámetros de halos de inhibición (mm) con las concentraciones respectivas del extracto hidroalcohólico. Donde la mayor concentración (22,5 mg/ml) dio el mayor diámetro de 23,2175 mm. Por el contrario, la menor concentración (13,125 mg/ml) dio un diámetro menor a 6 mm.

Figura 1. Actividad antimicótica *in vitro* del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Persea americana* (palta) frente a *Candida albicans* ATCC 10231 mediante la técnica de difusión de discos Kirby Bauer.



Fuente: Elaboración propia

Tabla 2. Grado de sensibilidad del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Persea americana* (palta) según escala de Duraffourd y Lapraz.

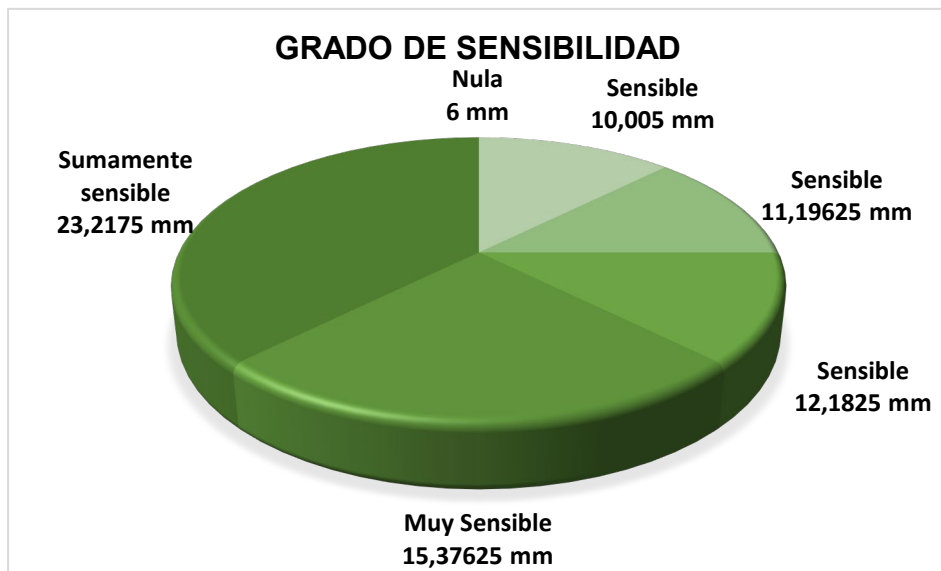
TRATAMIENTO	[]	MEDIAS	GRADO DE SENSIBILIDAD
T1	13,125 mg/ml	<6 mm	Nula (-)
T2	15,0 mg/ml	10,005 mm	Sensible (+)
T3	16,875 mg/ml	11,19625 mm	Sensible (+)
T4	18,75 mg/ml	12,1825 mm	Sensible (+)
T5	20,625 mg/ml	15,37625 mm	Muy sensible (++)
T6	22,5 mg/ml	23,2175 mm	Sumamente sensible (+++)

Fuente: Datos obtenidos por el investigador

INTERPRETACIÓN:

La tabla 2 dio como resultado mediante la escala de Duraffourd y Lapraz la sensibilidad limite (≥ 14 mm) al T5 (20,625 mg/ml) debido a que su grado de sensibilidad es muy sensible (++) y encontrándose en el T1 con grado de sensibilidad nula (-).

Figura 2. Grado de sensibilidad del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Persea americana* (palta) según escala de Duraffourd y Lapraz.



Fuente: Elaboración propia

PRUEBA DE NORMALIDAD DE LOS HALOS DE INHIBICIÓN DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LAS HOJAS DE *PERSEA AMERICANA* (PALTA).

Tratamientos	Prueba de normalidad					
	Kolmogorov - Smirnov ^a			Shapiro - Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Concentración de 13,125 mg	0,250	8	0,150	0,849	8	0,093
Concentración de 15,0 mg	0,305	8	0,20	0,794	8	0,25
Concentración de 16,875 mg	0,173	8	0,200	0,927	8	0,486
Concentración de 18,75 mg	0,213	8	0,200	0,944	8	0,650
Concentración de 20,625 mg	0,158	8	0,200	0,949	8	0,699
Concentración de 22,5 mg	0,215	8	0,200	0,924	8	0,467

INTERPRETACIÓN

Los valores de los halos de inhibición frente a *Candida albicans*, para cada tratamiento que se empleó presentan una distribución normal debido a que sus valores de significancia son mayores a 0,05; permitiendo aplicar una estadística paramétrica.

PLANTEAMIENTO DE LA HIPÓTESIS

$H_0: \mu < 9 \text{ mm}; P > 0,05$

$H_i: \mu > 9 \text{ mm}; P < 0,05$

VERIFICACIÓN DE LA HIPÓTESIS

Tabla 3. Estadística de Prueba T de Student para cada concentración del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Persea americana* (palta).

	Prueba para una muestra					
	t	g l	Sig.	Diferencia de medias	95% de intervalo de confianza de la diferencia	
					Inferior	Superior
Concentración de 13,125 mg	-14,967	7	0,200	-4,00000	-4,6320	-3,3680
Concentración de 15,0 mg	8,591	7	0,000	1,00500	0,7284	1,2816
Concentración de 16,875 mg	21,109	7	0,000	2,19625	1,9502	2,4423
Concentración de 18,75 mg	27,757	7	0,000	3,18250	2,9114	3,4536
Concentración de 20,625 mg	35,585	7	0,000	6,37625	5,9525	6,8000
Concentración de 22,5 mg	23,298	7	0,000	14,21750	12,7745	15,6605

INTERPRETACIÓN:

Se observa que al aplicar la prueba estadística t, el valor de P obtenido (0,200) en el T1 (13,125 mg/ml), es mayor a 0,05 aceptándose la hipótesis nula; donde no presenta actividad antimicótica a esta concentración. Sin embargo, el valor de P obtenido (0,000) desde el T2 (15,0 mg/ml) hasta el T6 (22,5 mg/ml), es menor a 0,05 aceptándose la hipótesis alterna porque si presenta actividad antimicótica frente a cepas de *Candida albicans*

Tabla 4. Actividad antimicótica *in vitro* del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Persea americana* (palta) frente a cepas de *Candida albicans* ATCC 10231.

Prueba para una muestra						
Valor de prueba = 9						
	t	gl	Sig.	Diferencia de medias	95% de intervalo de confianza de la diferencia	
					Inferior	Superior
Diámetros de halos de inhibición	4,661	47	0,000	3,82958	2,1767	5,4824

Fuente: Software estadístico SPSS v.28.0

INTERPRETACIÓN:

Al someter todos los valores de los halos de inhibición a la prueba estadística se visualiza que el valor de P obtenido es de 0,000, siendo este menor a 0,05 por lo que se acepta la hipótesis alterna; lo que quiere decir que el extracto hidroalcohólico si presenta actividad antimicótica frente a *Candida albicans*.

Tabla 5. Determinación de la Concentración mínima inhibitoria (CMI) del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Persea americana* (palta) frente a cepas de *Candida albicans* ATCC 10231.

Tratamiento	Concentración	Turbidez
T1	18.75 mg / ml	T
T2	19,167 mg / ml	T
T3	19,584 mg / ml	T
T4	20,001 mg / ml	T
T5	20,418 mg / ml	T
T6	20,835 mg / ml	NT
T7	21,252 mg / ml	NT
T8	21,669 mg / ml	NT
T9	22,086 mg / ml	NT
T10	22,503 mg / ml	NT
	(+)	T
Control	(-)	NT

NT: No presenta turbidez T: Presenta turbidez

INTERPRETACIÓN:

En la tabla N° 5 se dan los resultados de la determinación de la Concentración mínima inhibitoria (CMI), donde se observa que no hay turbidez a partir del Tratamiento N°6, 7, 8; lo cual indica disminución del desarrollo de *Candida albicans*. Siendo su CMI a 20,835 mg/ml.

Pruebas de normalidad						
	Kolmogorov-Smirnova			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
CMI	0,096	10	0,200 [*]	0,970	10	0,892

*. Esto es un límite inferior de la significación verdadera.

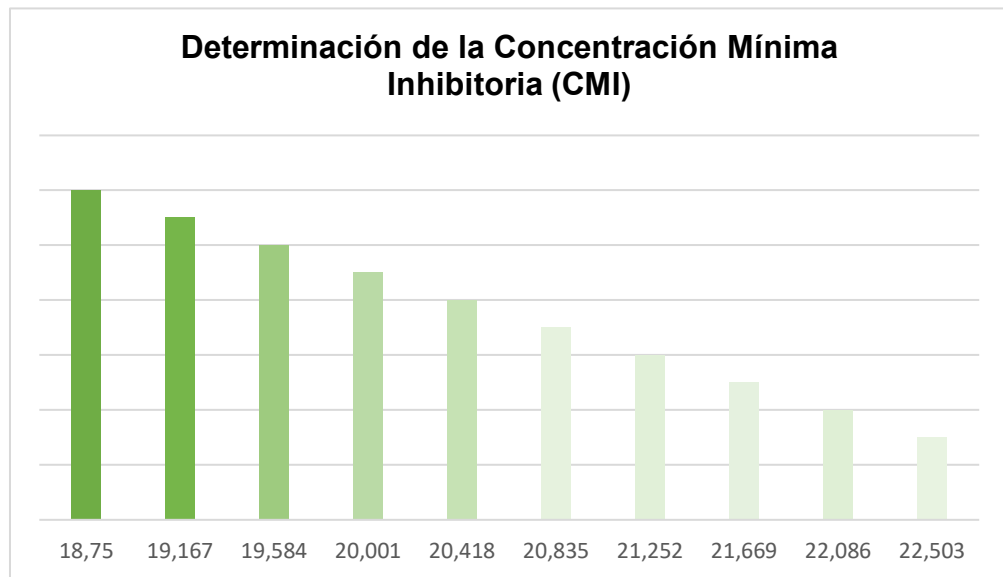
a. Corrección de significación de Lilliefors

Fuente: Software estadístico SPSS v.28

INTERPRETACIÓN:

Al ser los valores de P (0,2 y 0,892) mayores de 0,05; se puede decir que los valores de las concentraciones del extracto hidroalcohólico obtenido de las hojas de *Persea americana* para la determinación de la CMI frente a *Candida albicans*, tiene una distribución normal.

Figura 3. Determinación de la Concentración mínima inhibitoria (CMI) del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Persea americana* (palta) frente a cepas de *Candida albicans* ATCC 10231.



Fuente: Elaboración propia

Tabla 6. Determinación de la Concentración mínima fungicida (CMF) del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Persea americana* (palta) frente a cepas de *Candida albicans* ATCC 10231.

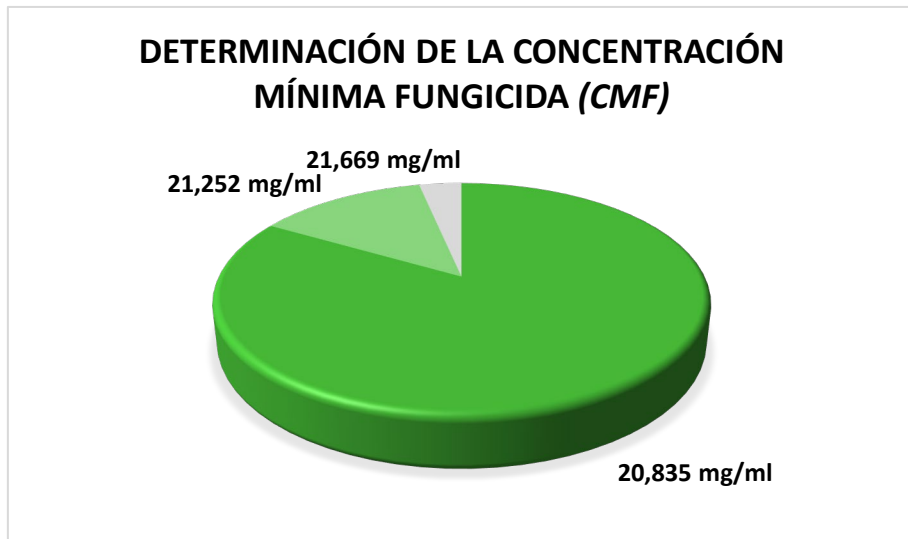
Nº placa	Nº Tubo	Concentración	UFC/Placa	Observaciones
1	6	20,835 mg/ml	25	
2	7	21,252 mg/ml	2	
3	8	21,669 mg/ml	0	CMF

Fuente: Datos obtenidos por el investigador

INTERPRETACIÓN:

En la tabla N° 8 se muestra los resultados de la determinación de la concentración mínima fungicida (CMF). Donde se observa que en la placa 3 que corresponde al tubo N°8 hubo ≤ 1 UFC (0). Por lo tanto, el CMF fue de 21,669 mg/ml.

Figura 4. Determinación de la Concentración mínima fungicida (CMF) del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Persea americana* (palta) frente a cepas de *Candida albicans* ATCC 10231.



Fuente: Elaboración propia

Tabla 7. Ensayo fitoquímico del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Persea americana* (palta).

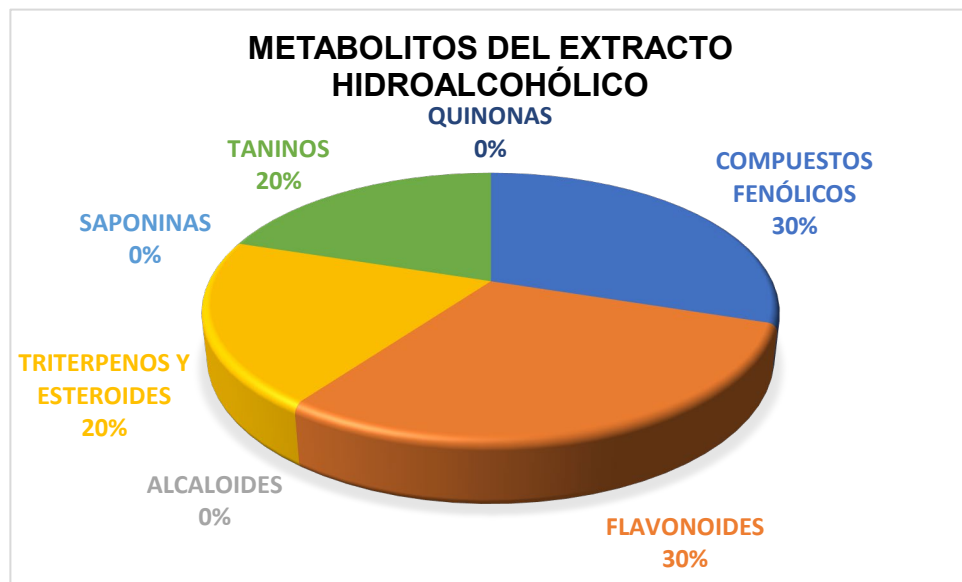
ENSAYO	Extracto Hidroalcohólico hojas de <i>Persea americana</i> (palta)
COMPUESTOS FENÓLICOS	+++
FLAVONOIDES	+++
ALCALOIDES	-
TRITERPENOS Y ESTEROIDES	++
SAPONINAS	-
TANINOS	++
QUINONAS	-

Ausente = -, Muy POCO = +, POCO = ++, Abundante = +++

INTERPRETACIÓN:

En la tabla 1 se identificó la presencia de compuestos fenólicos, flavonoides, taninos, esteroides y triterpenos. Pero no se evidenció metabolitos como quinonas, saponinas y alcaloides. Dando como resultado la mayor cantidad a los metabolitos fenólicos y flavonoides.

Figura 5. Ensayo fitoquímico del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Persea americana* (palta)



Fuente: Elaboración propia

DISCUSIÓN

Existen diversos estudios que constatan el uso de plantas por su actividad antimicótica en las practicas curativas tradicionales. Siendo las hojas de *Persea americana* y sus semillas, consideradas un recurso que no se aprovecha al máximo y un desafío en cuanto a la gestión de residuos para quienes las procesan. Se han realizado estudios etnofarmacológicos que abordan el uso de las semillas, informando sobre sus propiedades insecticidas, fungicidas y antimicrobianas. Estos estudios, especialmente prevalentes en Sudamérica donde la especie es endémica y actualmente se cultiva extensamente, destacan así la importancia potencial de aprovechar tanto las hojas como sus semillas.

Para el primer objetivo específico se planteó identificar los metabolitos secundarios del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Persea americana*, identificándose en el análisis fitoquímico de esta investigación flavonoides, compuestos fenólicos, taninos, esteroides y triterpenos. Teniendo resultados similares al nuestro, en el estudio de Guevara D. et. al (2021), donde se encontraron compuestos polifenólicos (flavonoides, taninos), esteroides y triterpenos en su extracto etanólico. Además, nuestra investigación concuerda con el de Bonifaz y Muñiz (2018) debido a que en su resultado hubo ausencia de saponinas.

Por otro lado el resultado de Santamaría (2013) se diferencia de nuestro estudio debido a que se detectó la presencia de triterpenoides o esteroides en nuestro análisis fitoquímico. También nuestros resultados se diferencian de la investigación de Ajayi (2017), ya que su trabajo dio como resultado presencia de saponinas mientras que en nuestra investigación no hubo presencia de estos metabolitos. Estas diferencias con respecto a la cantidad y diversidad de los metabolitos presentes suelen atribuirse a factores como el momento de recolección, variedad estudiada, etc.

Según Ferrari A. (2004) que realizó un estudio a la semilla de palta, donde comparó los extractos etéreos, acuoso, y etanólico, siendo este último el que presentó una mayor concentración de flavonoides y taninos. Esto se refleja en nuestro resultado debido a la presencia de estos metabolitos ya que el alcohol etílico fue lo que se utilizó para la realización del macerado en nuestro estudio.

Se planteó como segundo objetivo específico determinar la actividad antimicrobiana *in vitro* del extracto hidroalcohólico de *Persea americana* (palta) frente a cepas de *Candida albicans* mediante la técnica de Kirby bauer, obteniéndose como resultado sensibilidad a partir de la concentración 15 mg/ml la cual produjo el promedio de 10,005 mm de halo de inhibición. Este hallazgo está relacionado con el resultado de Conde H. et. al (2018), donde usó extracto hidroalcohólico de la semilla de *Persea*

americana demostrando actividad antifúngica a concentraciones de 500mg/ml, 750 mg/ml, 1000 mg/ml sobre *Candida albicans* generando halos de inhibición de 9.2 mm, 11 mm y 12 mm respectivamente. Coincidiendo también con los resultados de Canaza M. (2018) que uso concentraciones a 20%, 50%, 100% de extracto hidroalcohólico frente a *Trichophyton rubrum* obteniendo las siguientes zonas de inhibición promedio 23,63mm; 25,02mm y 29,43mm. Ambos estudios se diferenciaron del nuestro porque usaron las semillas de *Persea americana*. Esto debido a los pocos trabajos reportados en el Perú respecto a la actividad antimicótica de las hojas de esta planta, conociéndose solo la eficacia de las semillas frente a la *Candida albicans* y otras cepas bacterianas.

Uno de los pocos estudios reportados en Perú es el de Curo K. y Herrera D. (2022) que al compararlo con nuestra investigación que si evidencio actividad antimicótica en las hojas de *Persea americana* sobre *Candida albicans* con halos de inhibición promedio de 10,005 mm; 11,19625 mm; 12,1825 mm; 15,37625 mm y 23,2175 mm; pero en el trabajo de ellos no hubo actividad antimicótica debido a que sus halos fueron 6 mm, que al ser evaluado por la escala de Duraffourd y Lapraz indica que *Candida albicans* fue resistente a las concentraciones que usaron en su investigación, pudiendo ser esta diferencia de resultados debido a que las hojas de *Persea americana* en nuestro estudio se recolectaron en la provincia de

Tacna. Considerándose también que nuestro análisis fitoquímico del extracto hidroalcohólico presento abundante cantidad (+++) de compuestos fenólicos que son los metabolitos a los cuales se les atribuye la actividad estudiada. Mientras que en el de ellos hubo leve presencia de compuestos fenólicos. Siendo las condiciones de crecimiento, el proceso de extracción de la planta, así como, el lugar y momento de recolección, factores que afectan la cantidad de metabolitos presentes.

Para el tercer y cuarto objetivo específico se planteó determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) y concentración mínima fungicida (CMF) del extracto hidroalcohólico obtenido de las hojas de *Persea americana* (palta) frente a *Candida albicans*, obteniendo como CMI a 20,835mg/ml y como CMF a 21,669 mg/ml. Este hallazgo guarda relación con lo hallado por Conde H. et. al. (2022) en donde el utilizó semillas mientras que nosotros usamos las hojas. Obteniendo como resultado una CMI a 18,75 mg/ml y CMF a 37,5 mg/ml contra *Candida albicans*. Así también nuestra investigación concuerda con el estudio de Mantilla J. (2018) en donde su CMI fue 312,5 ug/ml y su CMF fue 2500 ug/ml obteniendo un porcentaje de inhibición >99% para la semilla de *Persea americana*. Además, también es similar a la investigación de Cosmo J (2020) que utilizó extracto de las hojas de *Persea americana* sobre

biopelículas de *Candida sp* obteniendo como resultado un CMI de 512ug/ml.

Asimismo, en la investigación de Makopa M. (2020), se evidencio que, para las cepas de hongos, *Candida tropicalis* mostró mayor susceptibilidad a los extractos de *Persea americana* con una viabilidad celular mínima del 8 % cuando se expuso al extracto de metanol en comparación con *Candida albicans* con una viabilidad celular mínima del 28 % cuando se expuso al extracto de DCM. Siendo similar a los resultados que se obtuvo en nuestro estudio realizado.

Por lo tanto, se concluye que los compuestos fenólicos son los que se distinguen por su capacidad para combatir los hongos. Su eficacia se ha notado principalmente en hongos que provocan enfermedades en las personas, como los pertenecientes al grupo *Candida*, la cual fue la cepa estudiada en nuestro trabajo. Por lo tanto, los metabolitos que se identificaron en las hojas de *Persea americana* convierten a esta planta en un objeto de atención para el desarrollo de componentes biológicamente activos, resultando un recurso valioso tanto para el sector farmacéutico como para la industria de alimentos.

CONCLUSIONES

- PRIMERA:** El extracto hidroalcohólico de *Persea americana* (palta) demostró actividad antimicótica *in vitro* frente a *Candida albicans* ATCC 10231 a partir de la concentración de 15 mg/ml.
- SEGUNDA:** El extracto hidroalcohólico de *Persea americana* (palta) presentó actividad antimicótica frente a *Candida albicans* ATCC 10231 muy sensible según la escala de Duraffourd y Lapraz (≥ 14 mm) en 20,625 mg/ml la cual produjo 15,37625 mm de halo de inhibición.
- TERCERA:** La Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del extracto hidroalcohólico de *Persea americana* (palta) frente a *Candida albicans* ATCC 10231 fue de 20,835 mg/ml debido a la disminución del crecimiento micótico.
- CUARTA:** La Concentración Mínima Fungicida (CMF) del extracto hidroalcohólico de *Persea americana* (palta) frente a *Candida albicans* ATCC 10231 fue de 21,669 mg/ml debido a la ausencia de crecimiento micótico.
- QUINTA:** Se identificó en el extracto hidroalcohólico de *Persea americana* (palta) la presencia de compuestos fenólicos, flavonoides, taninos, esteroides y triterpenos.

RECOMENDACIONES

1. Se recomienda para futuras investigaciones verificar la capacidad antimicótica del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Persea americana* comparando su efecto sobre otros tipos de hongos responsables de diversas enfermedades.
2. Se sugiere para próximas investigaciones que se realicen pruebas *in vivo* para determinar las dosis terapéuticas y tóxicas de los principios activos de *Persea americana*.
3. Por último, se recomienda hacer formulaciones farmacéuticas como geles, cremas o ungüentos; a partir del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Persea americana*, con el objetivo de realizar pruebas clínicas en individuos que padecen afecciones provocadas por *Candida albicans*.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Del Águila Romero CA, Oroche Pérez M. Actividad antibacteriana *in vitro* del extracto etanólico de la hoja de *Manihot esculenta Crantz* (yuca), mediante los métodos de macrodilución y difusión en disco frente a *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli*. Universidad Nacional Amazónica del Perú [Internet]. 2016 [citado 17 de enero de 2024]; Disponible en: <https://repositorio.unapiquitos.edu.pe/handle/20.500.12737/3892>
2. Caracterización de nuevos medicamentos no contaminantes para el tratamiento de enfermedades apícolas [Internet]. [citado 17 de enero de 2024]. Disponible en: <https://ri.conicet.gov.ar/handle/11336/81641>
3. Marin Salinas CJ. Efecto del ácido giberélico en la obtención de portainjertos de palto (*Persea americana Mill*) var. Duke en condiciones edafoclimáticas del distrito de Churubamba, Huánuco -2016. Universidad Nacional Hermilio Valdizán [Internet]. 2016 [citado 29 de mayo de 2024]; Disponible en: <http://repositorio.unheval.edu.pe/handle/20.500.13080/3979>
4. Núñez Solís WE. “Determinación de la resistencia al fluconazol y nistatina mediante el fungigrama en vaginosis crónica causada por

- Candida albicans* en mujeres de 18-35 años que acuden a CEMOPLAF (centro médico de orientación y planificación familiar) Iatacunga.” [Internet] [Tesis]. 2015 [citado 29 de mayo de 2024]. Disponible en: <https://repositorio.uta.edu.ec:8443/jspui/handle/123456789/8713>
5. Misaray Montes M, Canaza Larico. M Efecto antifúngico del extracto etanólico de la semilla de *Persea americana* (palta) en cepas de *Trichophyton rubrum*, *in vitro*. Repositorio Institucional - UIGV [Internet]. 4 de julio de 2018 [citado 8 de octubre de 2023]; Disponible en: <http://repositorio.uigv.edu.pe/handle/20.500.11818/2889>
 6. Cruz Valverde JL, Quispe Caunalla C. Efecto antimicótico del extracto etanólico de las hojas secas de *Laurus nobilis* (laurel) en cepas de *Candida albicans*, *in vitro*. Repos Inst - UIGV [Internet]. 13 de junio de 2018 [citado 19 de enero de 2024]; Disponible en: <http://repositorio.uigv.edu.pe/handle/20.500.11818/2954>
 7. Guevara DI, Payrol JA, Santana DP, Quintero RC. Estudio fitoquímico preliminar y actividad antioxidante de un extracto acuoso de hoja de aguacate (*Persea americana* Mill.). QhaliKay Rev Cienc Salud ISSN 2588-0608. 15 de septiembre de 2021;5(3):56-65.
 8. Banda B, Mangiza B, Makopa M. Antibacterial, Antifungal, and Antidiabetic Effects of Leaf Extracts from *Persea americana* Mill.

(Lauraceae). VirtualPro.co. 2023 [citado 9 de octubre de 2023].
Disponible en: <https://www.virtualpro.co/biblioteca/efectos-antibacterianos-antifungicos-y-antidiabeticos-de-los-extractos-de-hojas-de-persea-americana-mill-lauraceae>

9. Andrade JC, Alves AIS, Freitas MA, Dos Santos F de AG, Leite-Andrade MC, Sales DL, et al. Use of the natural products from the leaves of the fruitfull tree *Persea americana* against *Candida* sp. biofilms using acrylic resin discs. *Sci Total Environ.* 10 de febrero de 2020;703:134779.
10. Guillén Andrade H, Tapia Vargas LM, Espinosa García FJ, García Rodríguez YM, Torres Gurrola G, Escalera Ordaz AK. Identificación de nuevos metabolitos secundarios en *Persea americana* Miller variedad *Drymifolia*. *Rev Mex Cienc Agríc.* 2019;(Extra 23):253-65.
11. Ajayi OE, Alabi OA, Olalekan OT, Awala SI. Evaluation of Antimicrobial Potency and Phytochemical Screening of *Persea americana* Leaf Extracts against Selected Bacterial and Fungal Isolates of Clinical Importance. *Microbiol Res J Int.* 17 de mayo de 2017;1-11.
12. Jesus D, Jorge AOC, Junqueira JC, Higa KC, Oliveira FE, Oliveira JR. et al. *Persea americana* Glycolic Extract: *In Vitro* Study of Antimicrobial Activity against *Candida albicans* Biofilm and Cytotoxicity Evaluation. *Sci World J.* 29 de octubre de 2015;2015:e531972.

13. Chunga Mejía AM. Determinación de la acción antimicótica *in vitro* de un gel elaborado a partir del Aloe vera y *Persea americana* en la Universidad de Guayaquil, Facultad de Ciencias Químicas. Guayaquil, 2014. 2015 [citado 19 de enero de 2024]; Disponible en: <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/8111>
14. Yasir M, Kharya MD, Das S. The phytochemical and pharmacological profile of *Persea americana Mill.* Pharmacogn Rev. enero de 2010;4(7):77-84.
15. Conde Cayllahua H, Gomez Ayala LM. Efecto antifúngico del extracto hidroalcohólico de las semillas de *Persea americana Mill* “palta has” sobre *Candida albicans* ATCC 90028. setiembre - enero, Ayacucho 2021 - 2022. Univ Nac San Cristóbal Huamanga [Internet]. 2022 [citado 8 de octubre de 2023]; Disponible en: <http://repositorio.unsch.edu.pe/handle/UNSCH/4729>
16. Mantilla Roldan JM, Zavala Agreda JM. “Efecto antimicótico *in vitro* del extracto hidroalcohólico de la semilla de *Persea Americana Mill* en cepas de *Candida albicans*. 14 de diciembre de 2017 [citado 19 de enero de 2024]; Disponible en: <https://hdl.handle.net/20.500.14414/10106>
17. Curo Miranda KJ, Herrera Ríos DE. Efecto antifungico *in vitro* del extracto hidroalcoholico de las hojas de *Persea americana Mill.* (palta)

frente a la cepa de *Candida albicans* ATCC 10231. 12 de septiembre de 2022 [citado 8 de octubre de 2023]; Disponible en: <https://repositorio.uma.edu.pe/handle/20.500.12970/1116>

18.Ferreyra Shupingahua S. Actividad antibacteriana *in vitro* del extracto acuoso liofilizado de hojas de la especie *Persea americana* (palto) sobre microorganismos patógenos, IMET - EsSalud 2013. Univ Nac Amaz Peru [Internet]. 2013 [citado 8 de diciembre de 2023]; Disponible en: <https://repositorio.unapiquitos.edu.pe/handle/20.500.12737/4295>

19.Assessment UENC for E. Insecticidal and antifungal chemicals produced by plants: a review [Internet]. 2009 [citado 8 de diciembre de 2023]. Disponible en: https://hero.epa.gov/hero/index.cfm/reference/details/reference_id/1448098

20.Braga FG, Scio E, Moreira FO, de O Matos M, Fabri RL, Bouzada MLM, et al. Antileishmanial and antifungal activity of plants used in traditional medicine in Brazil. J Ethnopharmacol. 4 de mayo de 2007;111(2):396-402.

21.Sardi JCO, Mendes Giannini MJS, Fusco-Almeida AM, Bernardi T, Scorzoni L. *Candida* species: current epidemiology, pathogenicity, biofilm

formation, natural antifungal products and new therapeutic options. J Med Microbiol. enero de 2013;62(Pt 1):10-24.

22. Baíza Avelar VH, Ministerio de Agricultura y Ganadería ST (El S (MAG), Programa Nacional de Frutas de El Salvador SS (El S, Agricultura (IICA) II de C para la. Guía técnica del cultivo del aguacate. 2003 [citado 19 de enero de 2024]; Disponible en: <https://repositorio.iica.int/handle/11324/7367>

23. Hernández Gallardo YK. Encapsulación de aceite de aguacate mediante secado por aspersion [Internet] [Tesis]. 2015 [citado 2 de abril de 2024]. Disponible en: <http://repositorio.digital.tuxtla.tecnm.mx/xmlui/handle/123456789/890>

24. Lumieres - Repositorio institucional Universidad de América: Evaluación de un proceso para la obtención de fitoesteroles partiendo de la semilla del aguacate (*Persea americana Mill. Var Hass*) a escala laboratorio [Internet]. [citado 19 de enero de 2024]. Disponible en: <http://52.0.229.99/handle/20.500.11839/7709>

25. Soto Aira EY. Uso de protectores en injertos de palto (*Persea americana Mill*) y mango (*Mangifera indica*), en condiciones de vivero en Pillco Marca – Huánuco 2022. 2023 [citado 19 de enero de 2024]; Disponible en: <http://repositorio.unheval.edu.pe/handle/20.500.13080/8851>

26. Najarro Laura V. Actividad biológica del extracto etanólico de las hojas, corteza y semilla de *Persea americana* Mill, «palto» frente a cepas de enterobacterias. Ayacucho-2013. 2014 [citado 17 de enero de 2024]; Disponible en: <http://repositorio.unsch.edu.pe/handle/UNSCH/4102>
27. Rosero R. JC. Extracción y caracterización de los principios activos fenólicos con actividad antioxidante a partir de residuos de aguacate: Epicarpio y Semilla (*Persea americana*) [Internet]. Pasto, Colombia: Universidad de Nariño; 2017 [citado 11 de diciembre de 2023]. Disponible en: <https://sired.udenar.edu.co/3884/>
28. Castro-López C, Rojas R, Gutiérrez-Díez A, Martínez-Ávila GCG, González-Hernández MD, Bautista-Hernández I, et al. Polyphenolic Profile and Antioxidant Activity of Leaf Purified Hydroalcoholic Extracts from Seven Mexican *Persea americana* Cultivars. Mol Basel Switz. 4 de enero de 2019;24(1):173.
29. Santos-Buelga C, Alves MJ, Barros L, Pereira C, Ferreira ICFR. Artichoke and milk thistle pills and syrups as sources of phenolic compounds with antimicrobial activity. Food Funct. 13 de julio de 2016;7(7):3083-90.
30. Pareja Villanueva IK. Efecto analgésico de *Tiquilia Paronychioides* “Flor de Arena”. Univ Católica Los Ángeles Chimbote [Internet]. 25 de

noviembre de 2020 [citado 12 de diciembre de 2023]; Disponible en:
<https://repositorio.uladech.edu.pe/handle/20.500.13032/18883>

31. Bhuyan DJ, Devi OA, Basu A, Low M, Perera S, Alsherbiny MA, et al. The Odyssey of Bioactive Compounds in Avocado (*Persea americana*) and Their Health Benefits. *Antioxid* Basel Switz. 24 de septiembre de 2019;8(10):426.

32. Rotta, Mariane E, Morais D, Biondo F, Batoqui P Rodrigues D, et al. Use Of Avocado Peel (*Persea Americana*) In Tea Formulation: A Functional Product Containing Phenolic Compounds With Antioxidant Activity. *WOS* [Internet]. 29 de marzo de 2018 [citado 12 de diciembre de 2023]; Disponible en:
<http://repositorioslatinoamericanos.uchile.cl/handle/2250/1365392>

33. Santamaría Bedón EJ. Comprobación del efecto cicatrizante de los extractos hidroalcohólicos de malva (*Malva sylvestris L.*) y aguacate (*P. americana*) en ratones (*Mus musculus*) [Internet] [bachelorThesis]. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo; 2014 [citado 30 de marzo de 2024]. Disponible en:
<http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/3231>

34. Burga Bustamante Y. Efecto antibacteriano de extracto etanólico de semilla y corteza de *Persea americana Mill* (Palta) sobre *Salmonella typhi*

in vitro. septiembre de 2020 [citado 19 de enero de 2024]; Disponible en:
<https://repositorio.uap.edu.pe/xmlui/handle/20.500.12990/10313>

35. Rosas-Piñón Y, Mejía A, Rivero-Cruz JF, Sánchez-Nieto S, Aguilar MI, Díaz-Ruiz G. Ethnobotanical survey and antibacterial activity of plants used in the Altiplane region of Mexico for the treatment of oral cavity infections. *J Ethnopharmacol*. 14 de junio de 2012;141(3):860-5.
36. Dykes GA, Raymond Chia TW. Antimicrobial activity of crude epicarp and seed extracts from mature avocado fruit (*Persea americana*) of three cultivars. *Pharm Biol*. julio de 2010;48(7):753-6.
37. Rodríguez-Maturino A, Zamora-Bustillos R, Ruiz-Sánchez E, González-Mendoza D, Sánchez-Estrada A, Troncoso-Rojas R, et al. Efecto antifúngico de extractos fenólicos y de carotenoides de chiltepín (*Capsicum annum var. glabriusculum*) en *Alternaria alternata* y *Fusarium oxysporum*. *Rev Argent Microbiol*. 1 de enero de 2015;47(1):72-7.
38. Raveesha DKA. Evaluation of antifungal potential of selected medicinal plants against human pathogenic fungi. *Int J Green Pharm IJGP*. 21 de junio de 2015;9(2):110-7.
39. Barrace A, Beer J, Boshier DH, Chamberlain J, Cordero J, Detlefsen G, et al. Árboles de Centroamérica: un Manual para Extensionistas

[Internet]. CATIE; 2003 [citado 12 de diciembre de 2023]. Disponible en:
<https://repositorio.catie.ac.cr/handle/11554/9730>

40. Cari Larico HL, Diaz Quispe ER. Microbiota de la cavidad bucal y unidad dental en atenciones a 3824 metros sobre el nivel del mar, desarrollado en el policlinico de la policia y la Universidad Andina “Néstor Cáceres Velásquez” - Juliaca 2015. Univ Andina Néstor Cáceres Velásquez [Internet]. 2017 [citado 13 de diciembre de 2023]; Disponible en:
<http://repositorio.uancv.edu.pe/handle/UANCV/1080>

41. Iñiguez Cuenca LM, Jaramillo Aveiga KE. Incidencia de *Candida albicans* en mujeres embarazadas que asisten al centro de salud tipo C Velasco Ibarra del cantón Machala. 2023 [citado 29 de mayo de 2024]; Disponible en: <http://repositorio.utmachala.edu.ec/handle/48000/22343>

42. Vallejos Campos EC. Efecto antifúngico *in vitro* del extracto acuoso de *Rosmarinus officinalis* “romero” contra *Candida albicans*. Repos Inst - USS [Internet]. 2017 [citado 13 de diciembre de 2023]; Disponible en:
<http://repositorio.uss.edu.pe//handle/20.500.12802/4086>

43. Ramos Mendoza LF, Espitia Acevedo D. Infecciones micóticas asociadas a la atención en salud. 10 de julio de 2021 [citado 29 de mayo de 2024]; Disponible en:
<https://repositorio.unicordoba.edu.co/handle/ucordoba/4299>

44. Mamani Huayhua FS. Comparación de la inhibición hidroalcohólica de la *Mentha spicata* y la nistatina para inhibir el crecimiento *in vitro* de *Candida Albicans*, Juliaca 2018. 2018 [citado 29 de mayo de 2024]; Disponible en: <https://repositorio.uap.edu.pe/xmlui/handle/20.500.12990/2830>
45. Ugarte Gomez DM. Control de la actividad *in vitro* de *Rosmarinus Officinalis* (Romero) y nistatina para inhibir el crecimiento de *Candida Albicans*, Juliaca 2018. 2018 [citado 29 de mayo de 2024]; Disponible en: <https://repositorio.uap.edu.pe/xmlui/handle/20.500.12990/9824>
46. Robles Sánchez GJ. Efecto antimicótico *in vitro* de la solución de Ajo (*Allium sativum*), la Avena coloidal (*Avena sativa*) versus el Clotrimazol sobre cultivos de *Candida albicans* (ATCC 10231), Trujillo enero - octubre del 2016. 2016 [citado 18 de enero de 2024]; Disponible en: <https://repositorio.uap.edu.pe/xmlui/handle/20.500.12990/5805>
47. Gonzales Tume AR. Presencia de *Candida albicans* en gingivitis de pacientes diabéticos tipo 2. Repos Tesis - UNMSM [Internet]. 2018 [citado 13 de diciembre de 2023]; Disponible en: <https://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/20.500.12672/9408>
48. Bautista Carrasco PP. Evaluación de la actividad antifúngica de actinomicetos marinos frente a cepas de *Candida spp.* aisladas de

hemocultivos - Lima, 2015. 2016 [citado 3 de abril de 2024]; Disponible en: <http://repositorio.unsch.edu.pe/handle/UNSCH/1769>

49.Mamani Callacondo ON. Evaluación antimicótica *in vitro* del aceite esencial *Origanum vulgare* “orégano” frente a *Candida albicans* ATCC 6538. 2016 [citado 3 de abril de 2024]; Disponible en: <https://repositorio.unjbg.edu.pe/handle/20.500.12510/3339>

50.Vizcarra Delgado CM. Efecto Antifungico *in vitro* del aceite esencial de *Syzygium Aromaticum* (Clavo de Olor) sobre *Candida Albicans*. 2017 [citado 19 de enero de 2024]; Disponible en: <https://repositorio.uap.edu.pe/xmlui/handle/20.500.12990/1554>

51.Ruiz Quiroz JR. Actividad antifúngica *in vitro* y concentración mínima inhibitoria mediante microdilución de ocho plantas medicinales. Univ Nac Mayor San Marcos [Internet]. 2013 [citado 18 de enero de 2024]; Disponible en: <https://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/20.500.12672/2590>

52.Tuyo Llipita LA. Efecto de la actividad antimicótica “*in vitro*” del aceite esencial de *Tagetes minuta* L. “huacatay” frente a *Candida albicans*. 2015 [citado 3 de abril de 2024]; Disponible en: <https://repositorio.unjbg.edu.pe/handle/20.500.12510/3326>

53. Marca Cuello MR. Actividad antimicótica “*in vitro*” del aceite esencial *Cinnamomun zeylanicum Breyn* “canela” frente a *Candida albicans* ATCC 6538, Tacna, 2012. 2013 [citado 3 de abril de 2024]; Disponible en: <https://repositorio.unjbg.edu.pe/handle/20.500.12510/1083>
54. Zambrano Sancán JL, García Águila MA. Determinación de la capacidad antioxidante de extractos obtenidos de las hojas de *Mangifera indica L.* por diferentes métodos de extracción [Internet]. Universidad de Guayaquil. Facultad de Ciencias Químicas; 2017 [citado 18 de enero de 2024]. Disponible en: <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/19468>
55. Ramírez Rojano M, Ramirez Rojano M, 589912. Extracción y caracterización de metabolitos secundarios a partir de *Bacillus thuringiensis*. febrero de 2016 [citado 29 de mayo de 2024]; Disponible en: <https://hdl.handle.net/20.500.12371/2246>
56. Tello Lopez S, Tuesta Rios KJ. Metabolitos secundarios y actividad inhibitoria de hojas y corteza de *Spondias mombin* Linn y hojas de *Alternanthera lanceolata* (Benth.) Schinz sobre α -glucosidasa. 2022 [citado 29 de mayo de 2024]; Disponible en: <https://repositorio.unapiquitos.edu.pe/handle/20.500.12737/8474>
57. Barrios Martinez LK. Efecto del extracto Hidroalcohólico de la semilla de palta (*Persea Americana Mill*) en el Tratamiento de coccidiosis en pollos

(*Gallus Gallus Domesticus*). Univ Nac Hermilio Valdizán [Internet]. 2020 [citado 9 de junio de 2024]; Disponible en: <http://repositorio.unheval.edu.pe/handle/20.500.13080/5848>

58.Ocaña Herrera MJ. Determinación de la flora micótica asociada a infecciones respiratorias con secreciones faríngeas en pacientes con riesgo oncohematológico, UCI, VIH y sida en el hospital “Carlos Andrade Marín” durante el periodo de enero a junio del 2015. [Internet] [bachelorThesis]. Riobamba: Universidad Nacional de Chimborazo, 2015.; 2016 [citado 29 de mayo de 2024]. Disponible en: <http://dspace.unach.edu.ec/handle/51000/1325>

59.Loja Montoya M. Efecto antibacteriano *in vitro* de un colutorio elaborado con extracto alcohólico de *Rosmarinus officinalis* L. (romero) sobre *Streptococcus mutans* y *Enterococcus faecalis*. Repos Inst - USS [Internet]. 2017 [citado 18 de enero de 2024]; Disponible en: <http://repositorio.uss.edu.pe//handle/20.500.12802/4096>

60.Chica Rosales AM, Guayaquil Manzaba SL. Estudio de la actividad antimicrobiana del extracto alcohólico del tubérculo mashua (*Tropaeolum tuberosum*) en sus diferentes especies [Internet]. Universidad de Guayaquil. Facultad de Ciencias Químicas; 2019 [citado

18 de enero de 2024]. Disponible en:
<http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/39906>

61. Hernández Torres CM, Hernández Torres M. Las pruebas de sensibilidad antibacteriana de extractos vegetales en cepas de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. Univ Priv Antonio Guillermo Urreló [Internet]. septiembre de 2018 [citado 29 de mayo de 2024]; Disponible en: <http://repositorio.upagu.edu.pe/handle/UPAGU/742>
62. Alvarado-Ruiz DA, Lara-Cadena GL, Ordaz-Hernández K, Díaz-Jiménez M de LV, Castelán M. Caracterización del crecimiento de colonias bacterianas utilizando segmentación de imágenes con K-means. Pádi Bol Científico Cienc Básicas E Ing ICBI. 11 de septiembre de 2023;11(Especial2):1-6.
63. Vilcanqui-Pérez F, Vílchez-Perales C. Fibra dietaria: nuevas definiciones, propiedades funcionales y beneficios para la salud. Revisión. Arch Latinoam Nutr. junio de 2017;67(2):146-56.
64. Fonseca Taipe F. Perfil de Sensibilidad en Enterobacterias Productoras de Betalactamasas de Espectro Extendido Aislados de Urocultivo de Pacientes Pediátricos con Infecciones Urinarias. Hospital Nacional Hipólito Unanue. 2015. Univ Priv Norber Wien – Wien [Internet]. 2017

[citado 9 de junio de 2024]; Disponible en:
<https://repositorio.uwiener.edu.pe/handle/20.500.13053/494>

65. Durango Chávez OK. Comparación del efecto *in vitro* de los aceites esenciales de *Eucalyptus globulus* y *Origanum vulgare* sobre *Candida albicans* aislada de paciente con candidiasis vulvovaginal. Univ Priv Antenor Orrego [Internet]. 2020 [citado 9 de junio de 2024]; Disponible en: <https://repositorio.upao.edu.pe/handle/20.500.12759/6034>

ANEXOS

Anexo 1. Matriz de consistencia

PROBLEMA	OBJETIVO	HIPÓTESIS	VARIABLES	INDICADORES	MUESTRA	METODOLOGIA
<p>PRINCIPAL ¿Posee actividad antimicótica <i>in vitro</i> del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Persea americana</i> (palta) frente a cepas de <i>Candida albicans</i> ATCC 10231, Tacna 2022?</p> <p>SECUNDARIOS ¿Cuál será la actividad antimicótica <i>in vitro</i> del extracto hidroalcohólico de <i>Persea americana</i> (palta) frente a cepas de <i>Candida albicans</i> ATCC 10231, Tacna 2022? ¿Cuál será la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del extracto hidroalcohólico obtenido de las hojas de <i>Persea americana</i> (palta) frente a cepas de <i>Candida albicans</i> ATCC 10231, Tacna 2022? ¿Cuál será la Concentración Mínima Fungicida (CMF) del extracto hidroalcohólico obtenido de las hojas de <i>Persea americana</i> (palta) frente a cepas de <i>Candida albicans</i> ATCC 10231, Tacna 2022? ¿Cuáles serán los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Persea americana</i> (palta), Tacna 2022?</p>	<p>GENERAL Evaluar la actividad antimicótica <i>in vitro</i> del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Persea americana</i> (palta) frente a cepas de <i>Candida albicans</i> ATCC 10231, Tacna 2022</p> <p>ESPECÍFICOS Determinar la actividad antimicótica <i>in vitro</i> del extracto hidroalcohólico de <i>Persea americana</i> (palta) frente a cepas de <i>Candida albicans</i> ATCC 10231, Tacna 2022. Determinar la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del extracto hidroalcohólico obtenido de las hojas de <i>Persea americana</i> (palta) frente a cepas de <i>Candida albicans</i> ATCC 10231, Tacna 2022. Determinar la Concentración Mínima Fungicida (CMF) del extracto hidroalcohólico obtenido de las hojas de <i>Persea americana</i> (palta) frente a cepas de <i>Candida albicans</i> ATCC 10231, Tacna 2022. Identificar los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Persea americana</i> (palta), Tacna 2022.</p>	<p>HIPÓTESIS NULA El extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Persea americana</i> (palta) no presenta actividad antimicótica frente a cepas de <i>Candida albicans</i> ATCC 10231.</p> <p>HIPÓTESIS ALTERNA El extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Persea americana</i> (palta) si presenta actividad antimicótica frente a cepas de <i>Candida albicans</i> ATCC 10231.</p>	<p>VARIABLE INDEPENDIENTE Extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Persea americana</i> (palta)</p> <p>VARIABLE DEPENDIENTE Agente micótico patógeno <i>Candida albicans</i> ATCC 10231</p>	<p>INDEPENDIENTE Nula (-): < 8mm Sensible límite (+): de 9 mm a 14 mm Muy sensible (++) : 15mm a 19 mm Sumamente sensible (+++): >20 mm</p> <p>DEPENDIENTES: Diámetro en milímetros (mm) Turbidez UFC</p>	<p>POBLACIÓN MICROBIOLÓGICA. La población microbiológica está constituida por la cepa liofilizada <i>Candida albicans</i> ATCC 10231</p> <p>MUESTRA BIOLÓGICA Conformada por 20 placas Petri</p>	<p>TIPO DE INVESTIGACIÓN Aplicada, Prospectivo.</p> <p>NIVEL DE INVESTIGACIÓN Exploratorio</p> <p>DISEÑO El diseño de la investigación es de tipo no experimental, debido a que las variables no fueron manipuladas por el investigador y porque la información se recogió en un momento específico.</p>

Anexo 2. Recolección de material botánico



Figura 6. *Persea americana* (palta)

**Anexo 3. Obtención del extracto hidroalcohólico de las hojas de
Persea americana (palta)**



Figura 7. Molienda y maceración de las hojas de *Persea americana*.



Figura 8. Filtración y conservación de extracto hidroalcohólico

**Anexo 4. Análisis Fitoquímico del extracto hidroalcohólico de las
hojas de *Persea americana* (palta)**

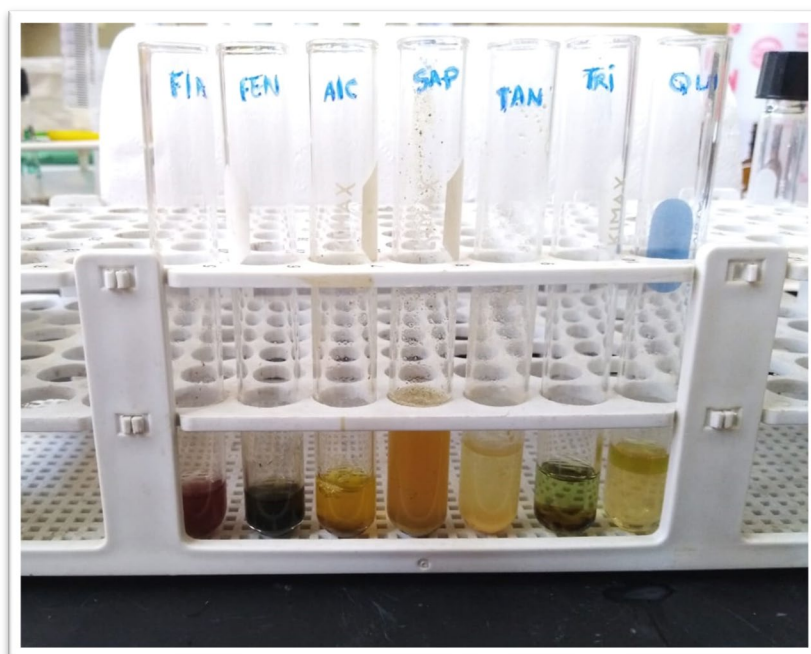


Figura 9. Marcha fitoquímica

Anexo 5. Obtención de la solución madre

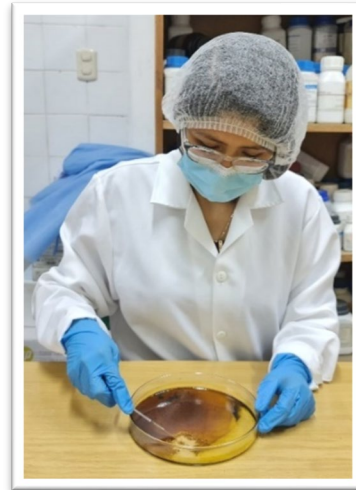
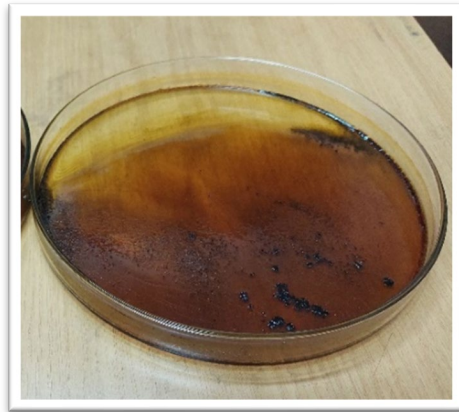


Figura 10. Obtención del principio activo de *Persea americana*



Figura 11. Preparación de la solución madre

Anexo 6. Determinación de la sensibilidad antimicótica por el método de difusión de disco.



Figura 12. Activación de Cepa *Candida Albicans* ATCC 10231



Figura 13. Preparación del inóculo micótico



Figura 14. Siembra del inóculo micótico por diseminación

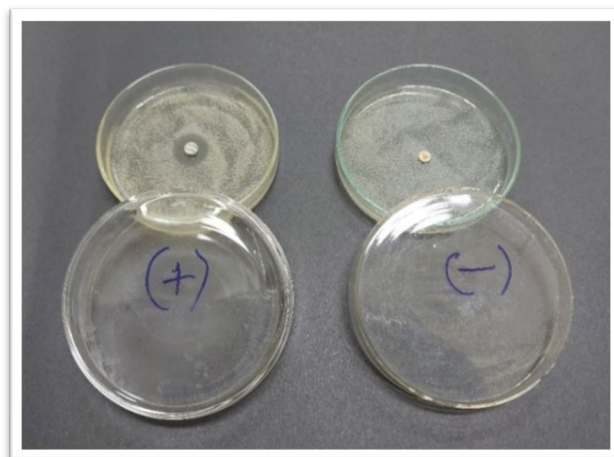


Figura 15. Control positivo y control negativo

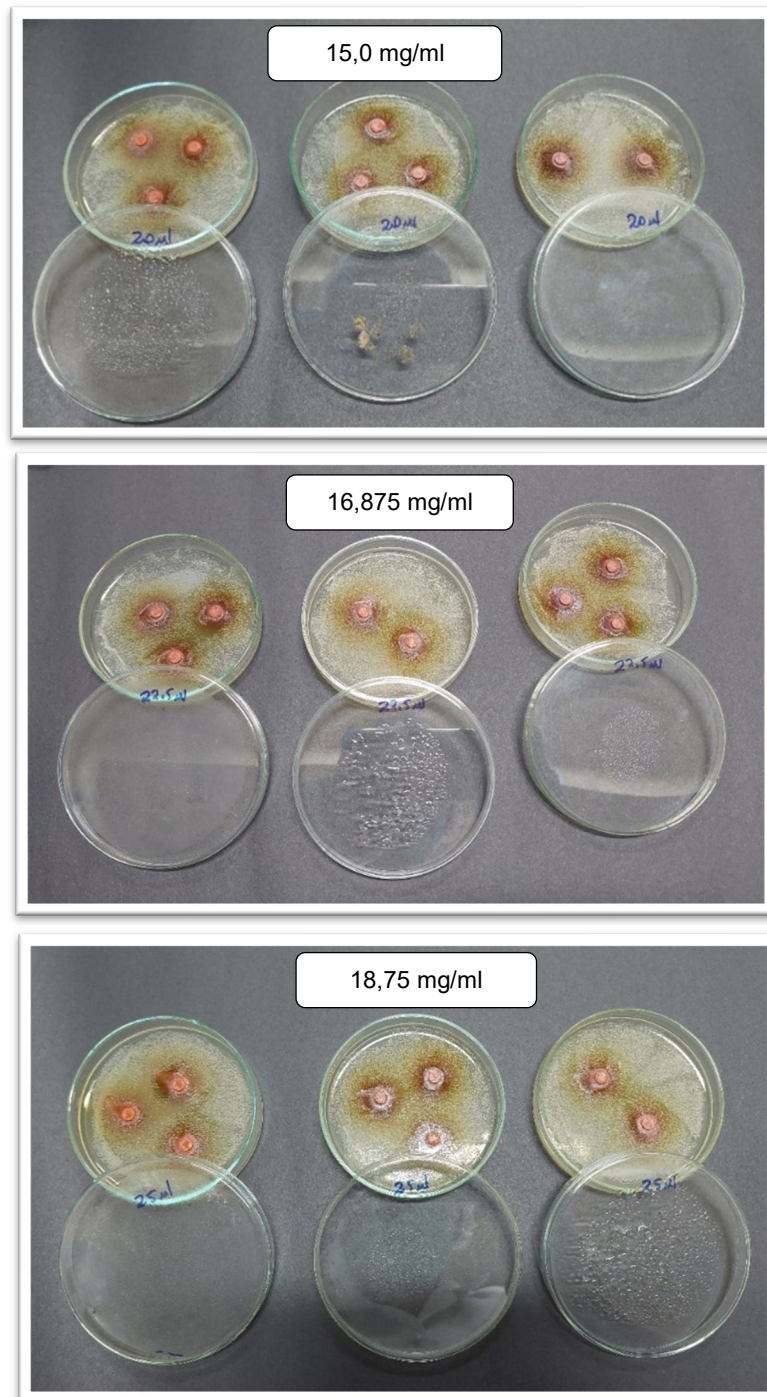


Figura 16. Halos de inhibición a concentraciones de 15,0 mg/ml; 16,875 mg/ml; 18,75 mg/ml

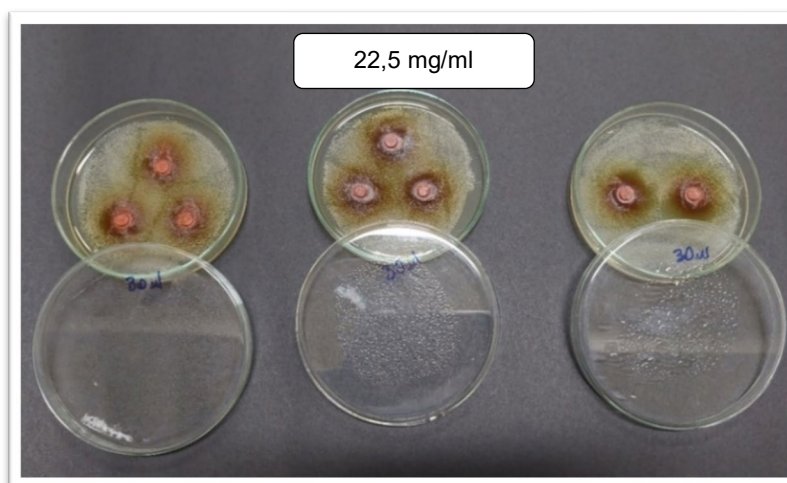
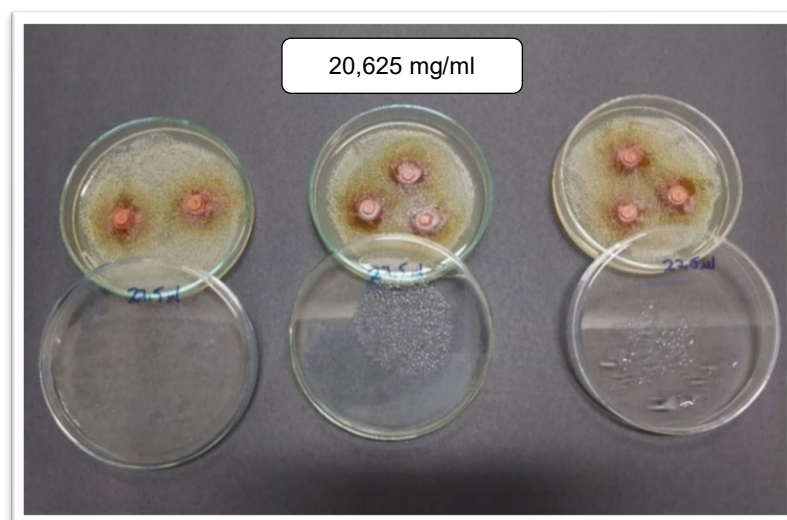


Figura 17. Halos de inhibición a concentraciones de 20,625 mg/ml y 22,5 mg/ml

Anexo 7. Determinación de la Concentración mínima inhibitoria (CMI)



Figura 18. Verificación de turbidez del inóculo micótico a 0.5 de escala de McFarland.

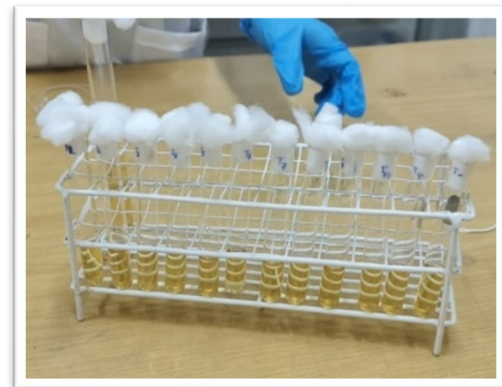


Figura 19. Preparación de 12 tubos de ensayo con Caldo BHI, inóculo micótico y extracto hidroalcohólico.

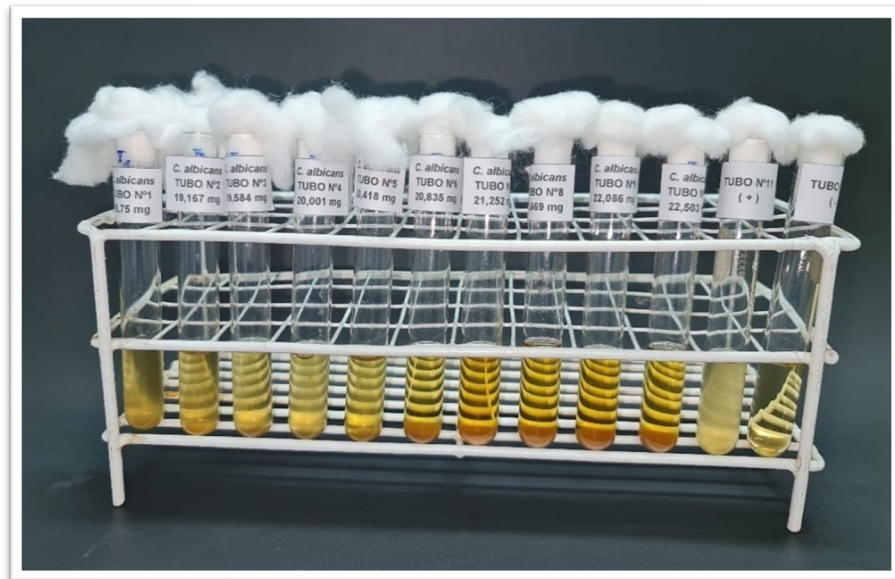


Figura 20. Resultado de la CMI, el cual se ubicó en el tubo de ensayo 6

Anexo 8. Determinación de la Concentración mínima fungicida (CMF)



Figura 21. Las 3 primeras concentraciones que no mostraron turbidez en la determinación de CMI

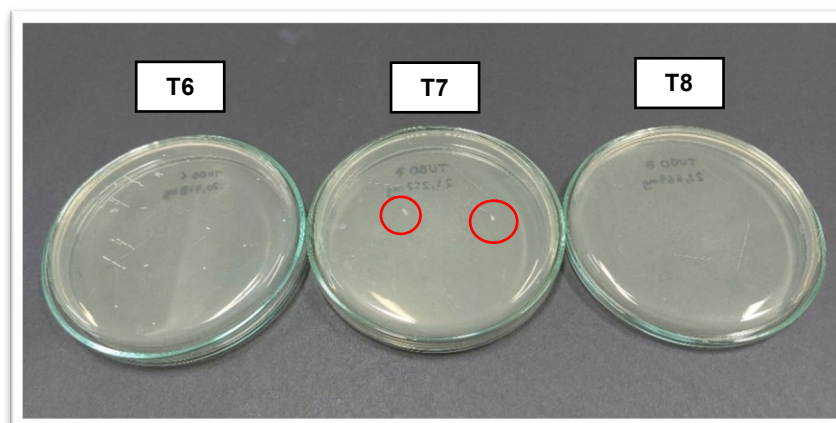


Figura 22. Siembra de los tubos 6, 7 y 8

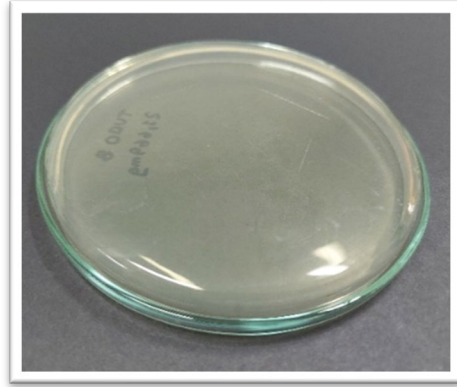


Figura 23. CMF para *Candida albicans*
(Tubo de ensayo 8)

Anexo 9. Certificado de identidad botánica



HERBARIO TAKANA (TKA)

Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann
Facultad de Ciencias
Ciudad Universitaria - Av. Miraflores s/n, Tacna - Perú



"Año del Fortalecimiento de la Soberanía Nacional"

Constancia N° 002 – TKA- 2022

EL DIRECTOR DEL HERBARIO TAKANA (TKA) DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL JORGE BASADRE GROHMANN, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra alcanzada a este despacho por **Claudia Alessandra Rivera Gonzales**, identificado con DNI N° 71396033, con domicilio legal en Carolina Freyre N° 2264-Natividad; estudiante de la Facultad de Ciencias de la Salud, Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann, cuya determinación taxonómica servirá para la realización del proyecto de Tesis: "Actividad antimicótica in vitro del extracto hidroalcohólico de hojas de *Persea americana* (Palta) frente a cepas de *Candida albicans*. Tacna 2022", ha sido estudiada y clasificada como: *Persea americana* y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988).

DIVISION MAGNOLIOPHYTA

CLASE MAGNOLIOPSIDA

ORDEN LAURALES

FAMILIA LAURACEAE

GENERO *Persea*

ESPECIE *Persea americana* Mill., 1768

Nombre vulgar: Palta

Determinado por: Bach. Cs. Biol. Javier Máximo Ignacio Apaza

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

Tacna, 11 de octubre del 2022


Dr. PABLO JUAN FRANCO LEON
Director del Herbario TKA

cc: Herbario TKA

Anexo 10. Informe del análisis fitoquímico del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Persea americana* (palta)



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO
FACULTAD DE CIENCIAS
LABORATORIO DE CROMATOGRAFIA Y ESPECTROMETRIA – Pabellón de Control de Calidad
AV. De la Cultura 733 CUSCO-PERÚ Contacto 973868855

RESULTADOS

Cusco 15 de Mayo 2023 ^{FG}

Solicitante : Claudia Alessandra Rivera Gonzales
Tipo de Análisis : Marcha fitoquímica cualitativa
Método : Reacciones a la gota
Tipo de Muestras : Extracto Hidroalcohólico de hojas de *Persea americana* "Palta"
Cantidad de Muestra : 1 con con 20ml aproximadamente
Almacenamiento : 4 °C.

Ensayo	Extracto Hidroalcohólico hojas de <i>Persea americana</i> "Palta"
Compuestos Fenólicos	+++
Flavonoides	+++
Alcaloides	-
Triterpenos y Esteroides	++
Saponinas	-
Taninos	++
Quinonas	-

Abundante = +++, Poco = ++, Muy Poco = +, Ausente = -


Nota:

El ensayo fitoquímico realizado al extracto consistió en reacciones de coloración y/o precipitación, en el que se evaluó la presencia o ausencia de metabolitos secundarios

Referencia

- Lock de Ugaz O. 1994. "Investigación Fitoquímica Métodos en el estudio en los productos naturales" Pontificia Universidad Católica del Perú, Lima.




Químico Jorge Chuquenaira Pari
Analista del Laboratorio de Cromatografía y
Espectrometría - UNSAAC.
CQP - 914