



**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE CIENCIAS FARMACÈUTICAS Y
BIOQUÍMICA**

TESIS

**EVALUACIÓN DE LA EFICACIA ANTIMICÓTICA DEL EXTRACTO
HIDROALCOHÓLICO DE HOJAS DE *Annona muricata* L.
(GUANÁBANA) FRENTE A *Candida albicans* ATCC 10231**

**PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO**

Presentado por:

Bach. Urbano Palomino, Silveria

Bach. Veramendi Gomez, Hedy

ASESOR:

Mg. Q.F. Collado Pacheco, Amadeo

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:

Recursos naturales: fitoquímica

Huancayo - Perú

2022

DEDICATORIA

A Dios, por concederme cada una de sus bendiciones y permitirme la culminación de ésta tesis.

A mis padres por creer en mi capacidad; y a pesar de los momentos difíciles siempre me brindaron su comprensión, cariño y amor.

Y a toda mi familia que siempre estuvieron conmigo ofreciendome su apoyo incondicional.

Bach. Silveria Urbano Palomino.

DEDICATORIA

A Dios, por permitirme llegar a este momento tan especial en mi vida y permitir la culminación de esta tesis. y agradecerme a mi misma , por no darme por vencida en muchas ociones y por seguir perseverando por mis sueños y ser el gran orgullo de mi Padre que desde que naci el quizo que yo sea una profecional con valores eso me a permitido ser una persona de bien. ya que nunca lo he conocido por que partio de este mundo cuando yo apenas era una bebe.

A mi hijo steve que fue motivo de mi superación.

A mis hermanos por brindarme su apoyo incondicional.

Bach. Hedy Veramendi Gomez.

AGRADECIMIENTO

A Dios, por iluminarnos y darnos salud y por permitirnos tener tan buena experiencia dentro de nuestra universidad

A nuestros pseres queridos, por ser los principales promotores de nuestros sueños, por confiar y creer en nuestros objetivos, por los consejos, valores y principios que nos han inculcado.

A la universidad por albergarnos en los años de estudios y a nuestros maestros por su enseñanza para desarrollarnos profesionalmente y habernos brindado todos sus conocimientos.

Y para finalizar, también agradecemos a todos los que fueron nuestros compañeros de clase durante todos los niveles de Universidad ya que gracias al compañerismo han aportado un alto porcentaje a las ganas de seguir adelante en nuestra carrera profesional.

Bach. Hedy Veramendi Gomez

Bach. Silveria Urabano Palomino.

JURADO

PRESIDENTE

DR. EDGAR ROBERT TAPIA MANRIQUE

MIEMBRO SECRETARIO

DR. VICENTE MANUEL AYALA PICOAGA

MIEMBRO VOCAL

Mg. Q.F. CARLOS MAX ROJAS AIRE

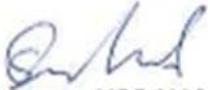
MIEMBRO SUPLENTE

Mg. Q.F. AMADEO COLLADO PACHECO

DECLARACION DE AUTENTICIDAD

DECLARACION JURADA SIMPLE

Yo, SILVERIA URBANO PALOMINO de nacionalidad Peruana, identificado con DNI
Nº 44341654, tesista de la universidad privada de Huancayo Franklin Roosevelt, Bachiller
En Farmacia Bioquímica, domiciliado en PSJ WACAYPATA 484 INT. 3 URB. TUPAC AMARU
SAN LUIS. DECLARO BAJO JURAMENTO QUE TODA LA INFORMACION PRESENTADA ES
AUTENTICA Y VERAZ. Me afirmo y ratifico en lo expresado en señal de la cual firmo el
presente documento a los 23 días del mes de junio del 2022.


Bach. SILVERIA URBANO PALOMINO



DNI: Nº 44341654

DECLARACION DE AUTENTICIDAD

DECLARACION JURADA SIMPLE

Yo, HEDY VERAMENDI GOMEZ de nacionalidad Peruana, identificado con DNI

Nº 45608114, tesista de la universidad privada de Huancayo Franklin Roosevelt, Bachiller

En Farmacia Bioquímica, domiciliado en ANTUNEZ DE MAYOLO MZ A LOTE 12- URB. LOS FICUS
-SANTA ANITA. DECLARO BAJO JURAMENTO QUE TODA LA INFORMACION PRESENTADA ES
AUTENTICA Y VERAZ. Me afirmo y ratifico en lo expresado en señal de la cual firmo el
presente documento a los 23 días del mes de junio del 2022.



Bach. HEDY VERAMENDI GOMEZ



DNI: Nº 45608114

ÍNDICE GENERAL

	Páginas
Resumen	viii
Abstract	ix
I.INTRODUCCIÓN	01
II.METODOLOGÍA	14
2.1 Tipo y nivel de la investigación	14
2.2 Diseño de la investigación	14
2.3 Población, muestra y muestreo	14
2.4 Variables de investigación	14
2.5 Técnicas e instrumentos de recolección de datos	15
2.6 Aspectos éticos	17
2.7 Procesamiento y análisis de datos	17
III.RESULTADOS	18
IV.DISCUSIÓN	22
V. CONCLUSIONES	23
VI. RECOMENDACIONES	24
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	25
ANEXOS	32

RESUMEN

El objetivo de la presente investigación fue evaluar la actividad antimicótica del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* L. “guanábana” frente a *Candida albicans* ATCC 10231. Es un estudio de diseño experimental; la muestra vegetal estuvo constituida por 750 gramos de hojas de *Annona muricata* L. “guanábana”, procedente de la Comunidad de Perico, distrito de Chirinos, provincia de San Ignacio, departamento de Cajamarca y la muestra microbiológica fue la cepa de *Candida albicans* ATCC 10231. Se realizaron ensayos de solubilidad, identificación de metabolitos secundarios y la actividad antimicótica del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* L. “guanábana” a concentraciones del 25 %, 50 %, 75 % y 100 % frente a *Candida albicans* ATCC 10231. Presento buena solubilidad únicamente en solventes de naturaleza polar, mediante el tamizaje fitoquímico se pudo evidenciar la presencia de compuestos fenólicos, taninos, flavonoides y alcaloides, finalmente no se evidenció actividad antimicótica, reportándose halos de inhibición de 6 mm de igual medida al control negativo de agua destilada. Se concluye que el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* L. “guanábana” no presentó actividad antimicótica frente a la cepa de *Candida albicans* ATCC 10231.

Palabras claves: *Annona muricata* L., extracto hidroalcohólico, *Candida albicans*

ABSTRACT

The objective of the present investigation was to evaluate the antifungal activity of the hydroalcoholic extract of the leaves of *Annona muricata* L. "soursop" against *Candida albicans* ATCC 10231. It is an experimental design study; The plant sample consisted of 750 grams of *Annona muricata* L. "soursop" leaves, from the Perico Community, Chirinos district, San Ignacio province, Cajamarca department, and the microbiological sample was the *Candida albicans* ATCC 10231 strain. Solubility tests, identification of secondary metabolites and antifungal activity of the hydroalcoholic extract of the leaves of *Annona muricata* L. "guanábana" were carried out at concentrations of 25%, 50%, 75% and 100% against *Candida albicans* ATCC 10231. I present good solubility only in solvents of a polar nature, through phytochemical screening the presence of phenolic compounds, tannins, flavonoids and alkaloids can be evidenced, finally no antifungal activity was evidenced, reporting inhibition halos of 6 mm of equal measure to the negative control of distilled water. It is concluded that the hydroalcoholic extract of the leaves of *Annona muricata* L. "soursop" did not present antifungal activity against the strain of *Candida albicans* ATCC 10231.

Keywords: *Annona muricata* L., hydroalcoholic extract, *Candida albicans*

I.- INTRODUCCIÓN

A principios de los años 60 cuando las enfermedades fúngicas empezaron a multiplicarse, debido al uso exorbitante de antibióticos que provocan la destrucción de comensales (microbiota) y al uso de corticosteroides y quimioterapéuticos que conducen a la inmunosupresión en pacientes con trasplantes de órganos, cáncer u otras enfermedades sistémicas o sistémicas. enfermedades metabólicas (1,2).

En la actualidad, se ha registrado que la enfermedad fúngica invasiva causa una carga significativa de enfermedad humana con más de 1,5 millones de muertes anuales atribuidas a enfermedades fúngicas causadas por *Candida*, *Aspergillus*, *Pneumocystis* y *Cryptococcus spp.* (3,4).

En las enfermedades fúngicas sistémicas, la mortalidad puede alcanzar hasta el 50% en la candidiasis sanguínea y la aspergilosis invasiva, que ha surgido como motivo de preocupación en todo el mundo (5).

A pesar de extensas investigaciones, el arsenal terapéutico disponible contra las enfermedades fúngicas es limitado y, al igual que las bacterias, algunos hongos también desarrollan resistencia contra los agentes antifúngicos. Por tanto, la aparición de resistencia a los antifúngicos se ha convertido en un problema importante en el manejo de la micosis sistémica o invasiva. Aunque la resistencia a los antibióticos es ampliamente conocida por los médicos / veterinarios, el personal de salud pública y los técnicos, la información sobre la resistencia a los antimicóticos es bastante limitada (6,7).

Por otro lado, los extractos de *Annona muricata* L. “guanábana” han mostrado efectividad contra los virus porque pueden disminuir la replicación viral (8). No obstante, en la actualidad no existe evidencia de la capacidad antimicótica de *Annona muricata* L

Según la problemática expuesta, nos planteamos el siguiente problema general:

¿El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* L. “guanábana” presentará eficacia antimicótica frente a *Candida albicans* ATCC 10231?

Asimismo, formulamos las siguientes preguntas específicas:

- ¿El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* L. “guanábana” a la concentración de 25% presentará eficacia antimicótica frente a *Candida albicans* ATCC 10231?
- ¿ El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* L. “guanábana” a la concentración de 50% presentará eficacia antimicótica frente a *Candida albicans* ATCC 10231?
- ¿ El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* L. “guanábana” a la concentración de 75% presentará eficacia antimicótica frente a *Candida albicans* ATCC 10231?
- ¿ El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* L. “guanábana” a la concentración de 100% presentará eficacia antimicótica frente a *Candida albicans* ATCC 10231?

Consideramos los siguientes antecedentes nacionales de nuestra investigación:

Del Aguila A, col (2019). La investigación se realizó con el fin de determinar el efecto inhibitorio in vitro de los extractos etanólicos de *Aloysia citriodora* Palau, *Annona muricata* L. y *Desmodium molliculum* (Kunth) DC. frente a *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*. Para obtener los extractos etanólicos a evaluar, se utilizó el Laboratorio de Microbiología Humana de la Facultad de Ciencias Biológicas — Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, en seguida se midió el efecto inhibitorio utilizando la técnica de difusión de Kirby-Bauer, que permitió medir la susceptibilidad, usando 5 concentraciones (100 mg/ml, 200 mg/ml, 300 mg/ml, 400 mg/ml y 500 mg/ml). Al calcular los promedios de los halos de inhibición del extracto etanólico de *Aloysia citriodora* Palau, se determinó que la especie más sensible fue *Staphylococcus aureus*, con halos de inhibición entre 8 a 15.11 mm; mientras que, *Pseudomonas aeruginosa* no presentó interacción. Con el extracto etanólico de *Annona muricata* L. se señala que ambas interactuaron sólo en la concentración de 500 mg/ml, encontrándose el promedio del halo de inhibición de 9.0 mm para *Pseudomonas aeruginosa* y 7 mm para *Staphylococcus aureus*. Finalmente, con el extracto etanólico de *Desmodium molliculum* (Kunth) DC., se estableció que,

la especie más sensible fue *Pseudomonas aeruginosa* con un promedio de halos de inhibición que oscilan entre 6 a 10 mm; en tanto *Staphylococcus aureus* presentó halos que varían entre 6 mm a 9.77 mm. Con el presente estudio se concluye que los extractos etanólicos trabajados tuvieron efecto inhibitorio con las cepas de *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*. (9)

Guillen y col (2019). El objetivo del estudio experimental fue demostrar los principios activos que presentan las hojas de *Annona muricata*, evaluar sus propiedades antibacterianas sobre medios de cultivo de *S. mutans* y *Lactobacillus* obtenidos de cavidades de niños con caries de la Infancia Temprana, atendidos en la Clínica Odontológica, y valorar cuál de las dos cepas estudiadas presenta mejor poder antibacteriano. Los resultados de la presente investigación pretenden contribuir al desarrollo de un nuevo agente antibacteriano de origen vegetal, que sirva para la preparación de productos de menor toxicidad que los convencionales utilizados para el control de caries en niños. Se evaluó los principios activos del extracto etanólico de hojas de *Annona muricata* L (Graviola), mediante la Cromatografía de Capa Fina a concentraciones con etanol sometidas a un rotavapor y columna con sílica gel seguidamente; se determinó el potencial antimicrobiano a través de las pruebas de susceptibilidad in vitro, observando los halos de inhibición del crecimiento sobre medios de cultivo para *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus*. Los hallazgos fundamentales fueron que el complejo activo del extracto etanólico de *Annona muricata* contiene Cumarinas, Alcaloides, Flavonoides y Taninos. Los halos de inhibición frente a las cepas de *S. mutans* y *Lactobacillus* se relacionan con el control de manera casi similar. La comparación del complejo activo de *Annona muricata* con el control (Clorhexidina 0.12%), evidenció halos menores comparados con los producidos por el mencionado antibacteriano. (10)

Figuroa R. y col. (2018) El objetivo del presente trabajo fue determinar el efecto antimicrobiano in vitro de la "*Annona muricata*" en concentraciones de 25%, 50% y 75% frente a *Enterococcus faecalis* en conductos radiculares infectados en niños. Se aislaron e identificaron las colonias de *E. faecalis* posteriormente se prepararon extractos acuosos de hojas de *Annona muricata* con concentraciones del 25%, 50 y 75%. La eficacia antimicrobiana se evaluó mediante el método de difusión de disco

contra *Enterococcus faecalis*, teniendo como resultado de máxima inhibición a las 48 horas. Las concentraciones de 25% fueron negativas para la inhibición, sin embargo, para las muestras de 50% el diámetro alcanzado es de 7,625mm como promedio de inhibición y para 75% el diámetro alcanzado es de 10,875mm como promedio de inhibición. Difiere con los resultados del control de G. de clorhexidina al 0,12% logrando alcanzar un diámetro de 16,25 como promedio. Se observó que la bacteria objetivo es susceptible en la concentración 75% del extracto acuoso. (11)

Abadie y col (2014) Se determinó la actividad antibacteriana de 6 extractos vegetales (*Alchornea triplinervia*, *Annona muricata*, *Averrhoa carambola*, *Brunfelsia grandifolia*, *Caraipa grandifolia* y *Cedrela odorata*) mediante la técnica de difusión en disco, y a aquellos que presentaron actividad se les determinó la CIM y CBM mediante la técnica de macrodilución en caldo. Ninguno de los extractos tuvieron actividad frente a las cepas de *E. coli*; cuatro extractos tuvieron actividad frente a las cepas de *P. aeruginosa*, siendo los extractos de *Cedrela odorata* y *Alchornea triplinervia* los que tuvieron mayor actividad frente a esta bacteria, con CIM = 15.62 y 62.5 mg/ml, respectivamente; todos los extractos tuvieron actividad frente a las cepas de *S. aureus*, siendo los extracto de *C. odorata*, *A. triplinervia* y *Caraipa grandiflora*, los de mayor actividad con una CIM = 3.91 mg/ml para cada uno. Se obtuvieron prometedores resultados de actividad antibacteriana de los extractos en estudio frente a cepas intrahospitalarias, mayormente contra *S. aureus*. (12)

Consideramos los siguientes antecedentes internacionales de nuestra investigación:

Kebed T, y col. (2021) En el trabajo de investigación “Evaluación de actividades antimicrobianas y screening fitoquímico de algunos seleccionados plantas medicinales: una posible alternativa en el tratamiento de microbios resistentes a múltiples fármacos” Tuvo como objetivo evaluar la actividad antimicrobiana y el screening fitoquímico de seleccionados plantas medicinales contra microbios MDR. Se realizó un estudio experimental in vitro para evaluar los efectos antimicrobianos y el screening fitoquímico de *Rumex abyssinicus*, *Cucumis pustulatus*, *Discopodium penninervium*, *Lippia adoensis*, *Euphorbia depauperata*, *Cirsium englerianum* y *Polysphaeria aethiopica* contra bacterias y hongos MDR. Los métodos de extracción acuosa y metanólica al 80% fueron empleado

para la extracción. La prueba de susceptibilidad, la concentración mínima inhibitoria y la concentración mínima bactericida o fungicida se midieron mediante difusión en disco o caldo microdilución según los protocolos CLSI. El método de extracción metanólica al 80% fue un método preferido al acuoso. Los componentes fitoquímicos identificados fueron alcaloides, flavonoides, saponinas, fenólicos, taninos, terpenoides y glucósidos cardíacos. El extracto hidroalcohólico demostró una apreciable función antimicrobiana contra los microbios MDR con un valor de MIC de 1.0-128.0µg / ml y Zona de inhibición (IZ) de 29 mm de diámetro. Los extractos obtenidos de *C. englerianum* y *E. depauperata* mostraron un intervalo IZ significativo de 26-29 mm en MRSA y *Streptococcus pyogenes*. MDR *E. coli* y *K. pneumoniae* mostraron 12-25 mm y 23-28 mm IZ de diámetro, respectivamente. *T. mentagrophytes* fue susceptible a todos los extractos probados. Además, se encontró que *S. pyogenes* y *K. pneumoniae* eran las bacterias más susceptibles a *C. englerianum*. *Cirsium englerianum*, *L. adoensis*, *D. penninervium* y *R. abyssinicus* demostraron un efecto antifúngico notable contra *C. albicans* y *T. mentagrophytes*, mientras que *R. abyssinicus* mostró el principal efecto antifúngico con valores de MIC de 32 a 64 µg / ml. Los extractos de plantas han mostrado actividades antimicrobianas apreciables comparables a las de los medicamentos modernos que se prescriben actualmente y que se prueban. En consecuencia, más estudios sobre ensayos de eficacia clínica. (13)

Dias de Freitas F, y col (2020) En el trabajo de investigación “Evaluación in vitro de la eficacia del extracto hidroalcohólico de cajá (*Spondias Mombin* L.) y graviola (*Annona Muricata* L.) en microorganismos orales” Tuvo como objetivo evaluar in vitro los parámetros químicos y de citotoxicidad selectiva de extractos hidroalcohólicos de corteza (EGC) y fruto (EGF) de guanábana (*Annona muricata* L.) y corteza (ECC) y fruto (ECF) de Cajá (*Spondias mombin* L.) , así como verificar su actividad antimicrobiana frente a *Candida* spp., *Prevotella intermedia*, *Fusobacterium nucleatum* y *Porphyromonas gingivalis*. Análisis de parámetros químicos realizado por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS). La citotoxicidad selectiva se evaluó mediante la prueba MTT (bromuro de 3- [4,5-dimetiltiazol-2-il] -2,5-difenil-tetrazolio) y los análisis microbiológicos de los extractos se determinaron mediante métodos de microdilución buscando una concentración inhibidora mínimo (MIC), cada determinación de la concentración mínima fungicida y bactericida (MFC / MBC). Como análisis de

rendimiento, GC-MS, MIC, MFC y MBC cumplieron con los parámetros de normalidad y se analizaron usando Two-Way Anova y MTT usando Bonferroni con $p < 0.05$. Los mejores rendimientos se observaron para EGC (18,50%) y ECC (14,68%). Los principales compuestos químicos presentes en los extractos eran del grupo éster. En el ensayo MTT, en 24 h, EGF mostró menos citotoxicidad que la clorhexidina ($p < 0,05$), mientras que a las 48 h, la ECC mostró una citotoxicidad menor que la ECF, nistatina y clorhexidina ($p < 0,05$). La CMI de cáscaras hidroalcohólicas y extractos de frutas de ambas especies vegetales contra *Candida spp.* fue de 8 mg / ml, mientras que para todas las bacterias periodontales solo la CEC fue eficaz a una concentración de 8 mg / ml. Los extractos no mostraron actividad fungicida y ECC mostró acción bactericida a una concentración de 8 mg / mL. Se puede concluir que los extractos de cáscara y fruto de cajá y guanábana presentaron baja actividad antimicrobiana frente a periodontopatógenos y *Candida spp.* y no demostró actividad fungicida a las concentraciones evaluadas. Sin embargo, la ECC mostró actividad bactericida y puede considerarse una alternativa viable como antibiótico debido a su menor toxicidad en comparación con los medicamentos disponibles comercialmente. (14)

Mithun B, y col (2016) En el trabajo de investigación “Eficacia antimicrobiana de la guanábana Extracto de hoja (*Annona muricata*) en Patógenos orales: un estudio in vitro” Tuvo como objetivo evaluar la eficacia antimicrobiana del extracto de hoja de guanábana (*Annona muricata*) en *Streptococcus mutans*, *Streptococcus mitis*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia* y *Candida albicans* mediante el método de difusión por disco. Se prepararon extractos de hojas de *Annona muricata* en concentraciones de 1%, 5%, 10%, 15% y 20%. La eficacia antimicrobiana se evaluó mediante el método de difusión en disco contra *Streptococcus mutans*, *Streptococcus mitis*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia* y *Candida albicans* en placas de agar. Todas las concentraciones de extractos fueron eficaces en la microbiota excepto *P. Intermedia*. El extracto de Guanábana fue altamente efectivo en especies de *Candida*, con todas las concentraciones exhibiendo propiedades bactericidas y fungicidas. Los extractos a diferentes concentraciones fueron efectivos en comparación con los controles estándar de oro y el efecto fue estadísticamente significativo ($p < 0.05$). Los datos obtenidos se analizaron usando un análisis de varianza de una vía (ANOVA) y la prueba post-hoc de Tukey. Los

extractos de Guanábana fueron eficientes para todos los organismos de prueba excepto *P. intermedia*. El presente estudio demostró que la eficacia in vitro de Guanábana fue mayor contra *S. mutans* seguida de *C. albicans* y menor contra *P. intermedia*. Por lo tanto, este estudio demuestra hasta cierto punto que el extracto de guanábana, cuando se usa contra la microbiota oral, tiene suficientes propiedades antimicrobianas y fungicidas.(15)

Kalidindi N, y col (2015) En el trabajo de investigación “Actividades antifúngicas y antioxidantes de extractos orgánicos y acuosos de hojas de *Annona squamosa* Linn.” Tuvo como objetivo evaluar mediante el método de difusión en pozos de agar y se evaluó la concentración inhibitoria mínima de cada extracto. por susceptibilidad antifúngica utilizando el método de microdilución en caldo. El potencial antioxidante de cada extracto fue determinado por los radicales libres (1,1-difenil-2-picrilhidrazilo, óxido nítrico y peróxido de hidrógeno), la actividad depuradora y la propiedad de poder reductor de las hojas de *A. squamosa*. Se encontró que tanto los extractos orgánicos como los acuosos expresan una inhibición dependiente de la dosis contra todas las cepas de hongos probadas tanto en los métodos de difusión de pocillos de agar como en los de dilución en caldo. Se encontró que la actividad de captura de radicales libres y la propiedad de poder reductor de todos los extractos eran dependientes de la concentración, y el extracto de metanol exhibía una mayor actividad antioxidante que el extracto de cloroformo, que era más eficaz que el extracto acuoso de hojas de *A. squamosa*. Los resultados del análisis fitoquímico de extractos mostraron la presencia de glucósidos, saponinas, taninos, flavonoides, fenoles, etc. Los resultados obtenidos de estudios in vitro de actividades antifúngicas y antioxidantes sugieren claramente que el metanol, cloroformo y extractos acuosos de hojas de *A. squamosa* poseen antifúngico y actividad antioxidante. (16)

Hay tres formas morfológicas principales de *Candida*, como la levadura unicelular, las hifas y las pseudohifas. La forma de la levadura es ovalada (3.5 a 6 mm x 6 a10 mm) con brotación axial o bipolar. Las hifas son tubos largos que consisten en células con lados paralelos, ancho uniforme y tabique verdadero sin constricción. Las pseudohifas son cadenas de células elipsoidales alargadas con constricción entre ellas. En las levaduras y las pseudohifas, la división nuclear y la formación de los septos tienen lugar cerca de la yema, mientras que en las hifas ambos procedimientos ocurren dentro del tubo

germinativo. Las clamidosporas de paredes gruesas permanecen unidas con hifas o pseudohifas por una célula suspensora. (17-19)

La pared celular está presente fuera de la membrana celular compuesta por capas internas y externas. La capa interna es una red de quitina, β - (1,3) glucano y β - (1,6) glucano, que es más translúcido para los electrones. La capa exterior tiene 150 nm de ancho compuesta de manoproteína. En la pared celular están presentes tres tipos de proteínas de la pared celular (CWP). El tipo más abundante es el glucofosfatidilinositol (GPI) CWP, que está unido covalentemente con β - (1,6) glucano a través del anclaje GPI. (20)

La expresión de formas morfológicas varía con la especie de *Candida*. Las tres formas son expresadas por *C. albicans* y *C. tropicalis*, mientras que otras especies como *Candida parapsilosis* pueden expresar las formas de levadura y pseudohifa. *C. glabrata* puede expresar las formas de levadura y pseudohifa, pero principalmente una forma de levadura tanto en el medio ambiente como en el tejido del huésped sin ningún cambio morfológico. (21)

El cambio morfológico entre la levadura y la forma filamentosa se correlaciona con la virulencia. Varios factores externos (señales ambientales) e internos regulan el cambio morfológico de *Candida*. Las señales ambientales incluyen presencia de suero, temperatura (37 ° C), niveles bajos de oxígeno, niveles altos de CO₂ y mala nutrición. Los factores internos incluyen el gen inducido por filamentos (HGC1), que codifica una proteína relacionada con la ciclina necesaria para la fosforilación de septinas y la inhibición de la separación celular. Varios miembros de la familia de genes de la aspartil proteinasa (SAP) secretada (SAP4, SAP5, SAP6) también se expresan durante el cambio morfológico necesario para la invasión de los tejidos del huésped. (22)

La transición de la fase de levadura a la hifal en *Candida* está regulada por la activación de la proteína quinasa activada por mitógenos y las vías de transducción de señales de la proteína quinasa A cAMP (PKA), que también pueden regular de manera coordinada la expresión del gen de virulencia asociada con esta transición. Tres histidina quinasas sensoras (Sln1, Chk1, Nik1) también regulan la conversión de fase y los mutantes no pueden producir hifas. Las moléculas de detección de quórum (comunicación microbiana) como farnesol, tirosol y dodecanol también están asociadas con la transición. (23)

Otro tipo de transición morfológica que se observa en *C. albicans* se conoce como transición blanco-opaco. En el laboratorio, este cambio es raro (una de cada 104 divisiones celulares) y está regulado por factores ambientales del huésped. Las células "blancas" son relativamente redondas y forman colonias lisas en medios sólidos, mientras que las células "opacas" son grandes y alargadas y forman colonias planas y grises u opacas. Ciertos genes específicos de fenotipo (WH11, EFG1) son expresados por glóbulos blancos, mientras que OP4 y SAP4 son expresados por células opacas. Los glóbulos blancos son más virulentos y pueden colonizar fácilmente los órganos internos del huésped, mientras que las células opacas están asociadas con infección cutánea probablemente debido a la expresión del gen SAP4. El regulador maestro de este complejo sistema de conmutación es WOR1, que puede convertir las células blancas en células opacas. Los factores ambientales del hospedador que regulan la transición blanco-opaco son el CO₂ y la N-acetilglucosamina (presente en la pared celular bacteriana comensal y el moco del tracto gastrointestinal), que pueden producir un fenotipo opaco estable.(24)

Clasificación: El género *Candida* pertenece a la clase Saccharomycetes (Hemiascomycetes). Tiene más de 200 especies. Entre ellas, 20 especies están asociadas con la candidiasis en humanos y animales. *C. albicans*, *C. tropicalis* y *C. glabrata* son los aislados con mayor frecuencia de muestras clínicas. Las otras especies patógenas son *C. parapsilosis*, *Candida stellatoidea*, *Candida guilliermondii*, *Candida krusei*, *Candida kefyr* y *Candida pseudotropicalis* (25)

Susceptibilidad a los desinfectantes: Crystal violet es muy eficaz contra *C. albicans*. Entre los antisépticos, el gluconato de clorhexidina al 4% en alcohol y la povidona yodada al 10% tienen actividad antifúngica potencial contra *Candida*. Los compuestos de amonio cuaternario (1: 10.000) son letales con un tiempo de contacto corto. (26)

Hábitat natural: *Candida* habita en la capa mucosa de animales y humanos, como los tractos digestivo, respiratorio superior y genital y la mucosa oral como el dorso posterior de la lengua. El ser humano o los animales sanos albergan cepas iguales o diferentes en diferentes partes del cuerpo las cepas pueden sufrir una "microevolución" con cambios genotípicos menores en un pequeño número de generaciones de células o "reorganización de subcepas" dentro del mismo individuo a lo largo del tiempo. Las cepas pueden invadir la parte más profunda de los tejidos para establecer la infección en condiciones inmunodeprimidas causadas por el uso prolongado de antibióticos o esteroides,

inflamación y rotura de la capa epidérmica por lesión. En el intestino predomina la forma de levadura de *Candida*. También se observan células de levadura morfológicamente alteradas ("fenotipo intestinal") durante el paso de *C. albicans* a través del intestino. Estas células alteradas expresan un transcriptoma especializado que ayuda a asimilar los nutrientes del intestino. *Candida* se encuentra comúnmente en el medio ambiente incluso en el nicho hÍper salino. (27-29)

Genoma: Se conoce toda la secuencia del genoma de *C. albicans* (SC5314), *C. glabrata* y *C. auris*. El genoma es diploide en la mayoría de las especies patógenas de *Candida* como *C. albicans*, *C. tropicalis* y *C. parapsilosis*. El genoma haploide se detecta en *C. guilliermondii* y *Candida lusitanae*. El tamaño del genoma de *C. albicans* es de 10,6 a 15,5 Mbp y el número de genes varía de 5733 a 6318. El genoma contiene los principales elementos de secuencia repetida en los que puede tener lugar la recombinación genética (Jones et al., 2004). Además de la recombinación, también se genera una alta diversidad genética en *C. albicans* a través de polimorfismos cromosómicos, reemplazo de genes y apareamiento crÍptico (Selmecki et al., 2010). El genoma de *C. auris* es diploide y comprende 12,3 Mb con un contenido de GC del 44,8%. Se encontraron un total de 6675 secuencias codificantes entre todos los aislamientos con un ARNr 5.8S, 184 ARNt y 3262 elementos repetitivos. Se puede acceder a más información sobre el genoma en la base de datos del genoma de *Candida* (30).

A nivel de transcripción, el apareamiento sexual de *Candida* estÁ regulado por loci MTL (locus de tipo de apareamiento) presentes en el genoma. Los factores de transcripción a2, a1 y a1 / a2 son necesarios para la expresi3n de genes especÍficos y la generaci3n de células heterodÍmeras a, ay a / a. El locus tambi3n contiene genes adicionales, como el gen de la fosfatidilinositol quinasa (PIK), las proteÍnas de uni3n a oxisterol (OBP) y las poli (A) polimerasas (PAP) con un papel desconocido en el apareamiento. En algunas especies de *Candida*, el apareamiento homotÁlico entre los mismos sexos se detecta cuando el MTL estÁ ausente o ambos loci se fusionan en un solo locus.(31)

Candida tiene dos grupos principales de antÍgenos, como los polisacÁridos termoestables (glucano, manano) y las glicoproteÍnas termolÁbiles. El manano es un antÍgeno principal de *Candida* que circula durante la infecci3n y comprende el 7% del peso seco de la pared celular. Es resistente al calor, proteinasa y pH ácido. La antigenicidad varía con la longitud

de la cadena lateral del polisacárido y la posición de los enlaces glicosídicos. *C. albicans* tiene dos serotipos (A y B) basados en estas variaciones.

Formación de biopelícula por *Candida spp.* se detecta en tejidos (oral / vaginal) y en dispositivos médicos como catéteres, unidades de hemodiálisis y diálisis peritoneal, válvulas protésicas intracardíacas, marcapasos, dispositivos de asistencia ventricular y derivaciones del sistema nervioso central. El biofilm está asociado con la virulencia ya que ayuda en la evasión de la respuesta inmune, la generación de resistencia antifúngica y la supervivencia de los hongos con los organismos competitivos. Las cepas de *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* y *C. glabrata* son buenos formadores de biopelículas. Las infecciones por *C. albicans* asociadas al catéter son una de las principales causas de mortalidad (30% a 40%) en los centros de salud humana (32).

En *C. albicans*, la biopelícula consta de dos capas, es decir, una capa basal hecha de blastosporas y una matriz de cobertura compuesta de hifas. En comparación con *C. albicans*, las biopelículas de *C. parapsilosis* y *C. tropicalis* son de naturaleza delgada y consisten en blastosporas con células de levadura e hifas o pseudohifas. La biopelícula de *C. glabrata* se compone únicamente de células de levadura, no de hifas. La adhesión con células u objetos sólidos y la transición de levadura a hifas son cruciales en la formación de biopelículas. La adhesión de *Candida* está mediada por la interacción entre ligandos adhesivos e interacciones inespecíficas como las fuerzas hidrófobas y electrostáticas (33).

La composición de la matriz de biopelícula de *Candida* (b-glucano, proteínas, fósforo y hexosaminas) varía con la composición del medio, el pH, el oxígeno y la cepa fúngica. El farnesol (molécula de detección de quórum) es uno de los reguladores cruciales para la formación de biopelículas de *Candida*, ya que los genes asociados con el mantenimiento de la pared celular, la hidrofiliidad de la superficie celular, el transporte de hierro y la formación de hifas están influenciados. En las células de *C. albicans* que tienen un genotipo competente de apareamiento, se detecta una biopelícula penetrable (34).

Se describió una baja afinidad por ERG11 como mecanismo de resistencia intrínseco de *C. krusei* contra fluconazol. *C. glabrata* se encontró intrínsecamente resistente contra imidazoles (miconazol) y triazoles (fluconazol, voriconazol) . La mutación natural en FKS1 reduce la susceptibilidad de *C. parapsilosis* a las equinocandinas (35).

La pérdida de heterocigosidad es un mecanismo importante asociado con la resistencia a los antifúngicos. La mutación en genes asociados con la resistencia a los antifúngicos se puede sustituir por otra, ya que *Candida* tiene un genoma diploide con un par de cada gen. La recombinación entre pares de cromosomas produce una pérdida de heterocigosidad que puede exponer el efecto de la mutación en genes asociados con la resistencia a los antifúngicos o la diversidad fenotípica (36).

La pérdida de heterocigosidad se asocia no solo con la exposición a antifúngicos sino también al calor y al estrés oxidativo. *Candida haemulonii* y *C. auris* correlacionada filogenéticamente mostraron resistencia intrínseca al fluconazol y la anfotericina B. El borrador del genoma de *C. auris* publicado recientemente reveló la presencia de genes de copia única como ERG3, ERG11, FKS1, FKS2 y FKS3 y la expresión regulada al alza de los transportadores ABC para la salida de fármacos (37).

El objetivo general del estudio será:

- Evaluar la eficacia antimicótica del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* L. “guanábana” frente a *Candida albicans* ATCC 10231.

Asimismo, los objetivos específicos del estudio serán:

- Determinar la eficacia antimicótica del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* L. “guanabana” a la concentración de 25% frente a *Candida albicans* ATCC 10231.
- Determinar la eficacia antimicótica del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* L. “guanabana” a la concentración de 50% frente a *Candida albicans* ATCC 10231.
- Determinar la eficacia antimicótica del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* L. “guanabana” a la concentración de 75% frente a *Candida albicans* ATCC 10231.

- Determinar la eficacia antimicótica del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* L. “guanabana” a la concentración de 100% frente a *Candida albicans* ATCC 10231.

Además, se planteó las siguientes hipótesis:

- Ho: El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* L. “guanábana” no evidencia eficacia antimicótica frente a *Candida albicans* ATCC 10231.
- H1: El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* L. “guanábana” evidencia eficacia antimicótica frente a *Candida albicans* ATCC 10231.

II. METODOLOGIA

2.1 Tipo y nivel de investigación

El tipo de investigación es básica y de nivel explicativo.

2.2 Diseño de investigación

Es un estudio de diseño experimental, analítico cualitativo y cuantitativo.

2.3 Población y muestra

2.3.1 Población de estudio

La población estuvo representada por las plantas de *Annona muricata* L. “guanábana”, procedente de la comunidad de Perico, distrito de Chirinos, provincia de San Ignacio, departamento de Cajamarca.

2.3.2 Muestra de estudio

La muestra estuvo conformada por 750 gramos de las hojas de *Annona muricata* L. “guanábana”, procedente de la comunidad de Perico, distrito de Chirinos, provincia de San Ignacio, departamento de Cajamarca.

2.4 Variable y operacionalización de variable:

2.4-1 Variables de estudio

Variable dependiente: Eficacia antimicótica frente a *Candida albicans* ATCC 10231

Variable independiente: Extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* L. “guanábana”

2.4.2 Operacionalización de variable

Variable	Dimensión	Indicador	Instrumento
<p>Independiente</p> <p>Extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Annona muricata</i> L. “guanábana”</p>	Concentración del extracto de hojas de <i>Annona muricata</i> L.	La concentración y presencia de metabolitos secundarios	Ficha de recolección de datos
<p>Dependiente</p> <p>Eficacia antimicótica frente a <i>Candida albicans</i> ATCC 10231</p>	Reducción del halo de crecimiento microbiano.	milímetros	Ficha de recolección de datos.

2.5 Técnicas e instrumentos de recolección de datos

2.5.1 Técnicas

a) Muestreo y tratamiento

La recolección de la especie vegetal se realizó según las buenas prácticas de recolección. Se recolectarán las hojas de *Annona muricata* L. “guanábana” teniendo en cuenta características uniformes entre todas las hojas recolectadas, posteriormente se realizó la clasificación botánica.

b) Ensayo de solubilidad del extracto

Del extracto seco obtenido, con la ayuda de una varilla de vidrio se utilizó una pequeña muestra y se colocó en el fondo de cada tubo de prueba, luego se

adicionó 1 mL de los siguientes solventes: agua, etanol, metanol, éter de petróleo, acetona, cloroformo, hexano.

c) Ensayo de la marcha fitoquímica

Del extracto obtenido se realizó distintas pruebas de identificación de diversos compuestos químicos por medio de variaciones de coloración o aparición de precipitados, donde se determinó la existencia de los principales metabolitos secundarios.

d) Determinación de la actividad antimicótica

La evaluación de la actividad antifúngica se realizó en el centro de control analítico de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la UNMSM por el método de difusión en agar, con este método nos permitió evaluar la actividad antifúngica del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* L. “guanábana” frente a la cepa de *Candida albicans* ATCC 10231.

El ensayo se fundamenta en la inhibición del desarrollo fúngico, mediante la expansión de los elementos activos en un medio sólido y se comprueba en función al desarrollo de halos de inhibición cerca de las colonias.

Para la elaboración de la suspensión del inóculo, se utilizó la cepa *Candida albicans* ATCC 10231 en agar glucosa Sabouraud por 48 h. Después de suspender al microorganismo en solución salina 0,85 % y se ajustó la turbiedad al semejante al tubo 0,5 de la escala de McFarland.

Se utilizó el agar glucosa Sabouraud al inocular 1 mL de suspensión de inoculación (1×10^8 ufc / mL) por 100 mL de promedio, homogeneizar y distribuir en láminas Petri de vidrio de diámetro medio de 90 mm, fueron rotulados con el apelativo del microorganismo. Por último, se realizaron agujeros con un punzón de acero con un diámetro exterior de 11 mm, haciendo 2 o 3 agujeros equidistantes en cada placa. La inoculación e incubación de la muestra poner 100 μ L del extracto de la concentración anterior en el pocillo, se dejó reposar a temperatura ambiente durante 30 minutos y luego incubo a 37 ° C durante 24 horas. Se observó que las áreas luminosas de inhibición del

aumento (halos) y se midieron los diámetros en mm. Se utilizó las siguientes estimaciones para garantizar una actividad antifúngico sustancial a un halo de inhibición superior a 18 mm según Rojas (38).

2.6 Aspecto ético

En el desarrollo de la presente investigación se considero las buenas prácticas de laboratorio, prar minimizar el posible daño al medio ambiente.

2.7 Procesamiento y análisis de datos

Luego de la obtención de los datos se procedió a la clasificación de la información, tomando como referencias las dimensiones de la variable de estudio. Para la presentación de los resultados la investigación, se utilizó tablas y gráficos mediante el programa de Microsoft Excel, los cuales nos permitió interpretar en forma adecuada la información y posteriormente nos facilitó redactar las discusiones del estudio.

III.RESULTADOS

3.1.Ensayo de solubilidad del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* L. “guanábana”

Tabla 1. Solubilidad del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* L. “guanábana”

Solventes	Resultados
Agua destilada	+
Etanol	+
Metanol	+
Cloroformo	-
Benceno	-
Acetona	-
Éter etílico	-

Leyenda: (+): soluble (-): insoluble

Fuente: Elaboración propia

Interpretación: En la tabla N°1, se evidencia que el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* L. “guanábana”, presentó buena solubilidad con solventes polares como agua destilada, metanol, etanol. Sin embargo, no presentó solubilidad en solventes como el cloroformo, acetona, benceno, éter etílico.

3.2. Marcha fitoquímica del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* L. “guanábana”

Tabla 2. Marcha fitoquímica del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* L. “guanábana”

METABOLITOS SECUNDARIOS	ENSAYO	RESULTADO
Compuestos fenólicos	Rvo. FeCl ₃ 5%	+
Taninos	Rvo. Gelatina 1%	+
Flavonoides	Rvo. Shinoda	+
Alcaloides	Rvo. Dragendorff	+
	Rvo. Mayer	+
Antraquinonas	Rvo. Borntranger	-
Saponinas	Espuma persistente	-

Leyenda:

(+) Presencia de metabolito secundario

(-) Ausencia de metabolito secundario

Fuente: Elaboración propia

Interpretación: En la tabla N°2, se evidencian los resultados de la marcha fitoquímica determinada a través de reacciones de coloración y precipitación, se realizaron los ensayos de triclورو de hierro, gelatina, Shinoda, Dragendorff, Mayer, Borntranger, espuma persistente. Se identificó la presencia de metabolitos como los compuestos fenólicos, taninos, flavonoides, alcaloides. No se evidenció la presencia preliminar de metabolitos como antraquinonas y saponinas.

3.3.Evaluación de la actividad antimicótica

Tabla 3. Actividad antimicótica del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* L. “guanábana” frente a *Candida albicans* ATCC 10231

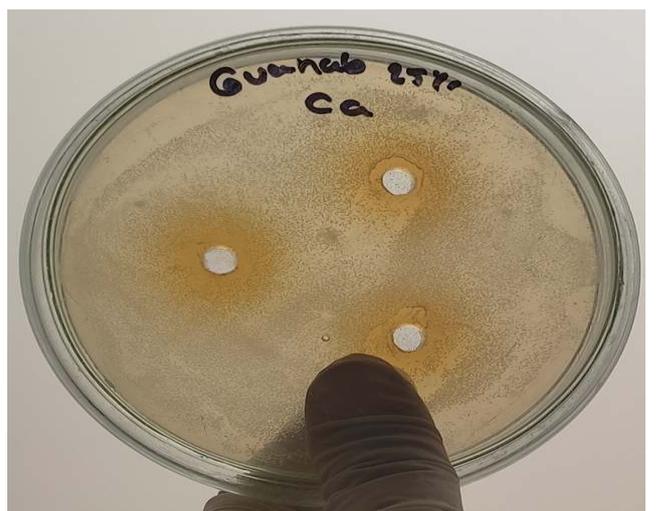
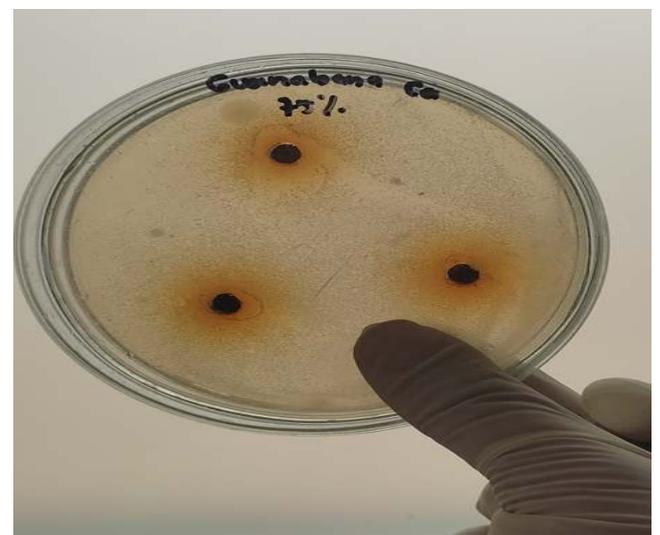
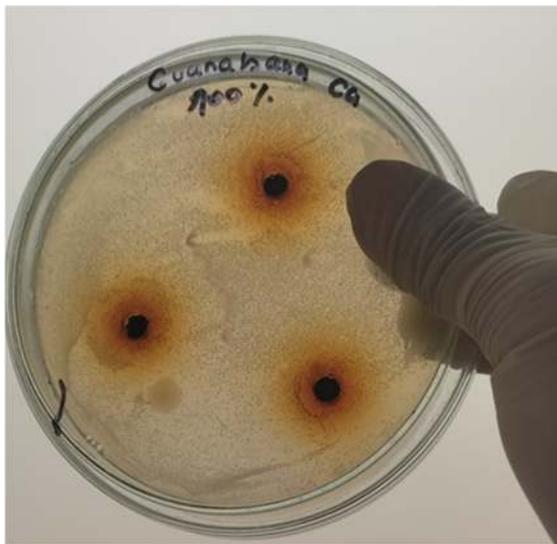
Microorganismo <i>Candida albicans</i> ATCC 10231	Longitud de halos de inhibición (mm) -24 horas					
	Control negativo	25% del Extracto	50% del Extracto	75% del Extracto	100% del Extracto	Control positivo
c1	6	6	6	6	6	19.28
c2	6	6	6	6	6	19.72
c3	6	6	6	6	6	18.81
Promedio	6	6	6	6	6	19.27

*Control positivo: Fluconazol 0.2 mg/mL

*Control negativo: Agua destilada

Fuente: Elaboración propia

Interpretación: En la tabla 3, se muestran los resultados de la actividad antimicótica del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* L. “guanábana” frente a *Candida albicans* ATCC 10231. Se observa que los halos de inhibición del control negativo y del extracto a las diferentes concentraciones fueron 6 mm; mientras que el control positivo presento un halo de inhibición promedio de 19.27 mm.



IV. DISCUSIONES

En la tabla 1, se puede apreciar que el extracto hidroalcohólico de *Annona muricata* L. “guanábana”, presenta buena solubilidad en solventes polares como el agua destilada, etanol, metanol. Por el contrario, fue insoluble frente a solventes apolares como la cloroformo, acetona, benceno, éter etílico; esto se debe a que los diversos componentes que conforman el extracto hidroalcohólico de *Annona muricata* L. “guanábana”, como compuestos fenólicos, taninos, flavonoides y alcaloides, tiene afinidad a los compuestos polares.

En la tabla 2, se evidencia los resultados de la marcha fitoquímica del extracto hidroalcohólico de *Annona muricata* L. “guanábana”, se identificó la presencia de metabolitos como los compuestos fenólicos, taninos, flavonoides, alcaloides. El contenido descrito de metabolitos secundarios es similar a los reportados por Guillen y col.¹⁰ en el año 2019, quien reportó en el extracto etanólico de las hojas de *Annona muricata*, la presencia de alcaloides, flavonoides y taninos.

En la tabla 3, se describen los resultados de la actividad antimicótica del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* L. “guanábana” frente a *Candida albicans* ATCC 10231. Se observa que los halos de inhibición para todas las concentraciones del extracto y el control negativo fueron de 6 mm. mientras que el control positivo reportó un halo de inhibición promedio de 19.27 mm. Existen estudios que indican que la especie vegetal motivo de la presente investigación, presenta poca actividad antimicobiana, como la investigación realizada por Del Aguila y colaboradores⁹, quienes al realizar el estudio cuyo objetivo fue determinar el efecto inhibitorio in vitro del extracto etanólico de *Annona muricata* L. frente a *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*, reportaron una actividad no significativa del extracto frente a las bacterias *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*.

A pesar de que nuestros resultados muestran valores no favorables, es importante destacar seguir realizando ensayos y pruebas más específicas debido a que las infecciones causadas por especies de *Candida albicans* han aumentado significativamente en los últimos 30 años, especialmente en pacientes inmunocomprometidos.

V.CONCLUSIONES

- El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* L. “guanábana” a la concentración del 25% no presenta actividad antimicótica frente a *Candida albicans* ATCC 10231.
- El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* L. “guanábana” a la concentración del 50% no presenta actividad antimicótica frente a *Candida albicans* ATCC 10231.
- El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* L. “guanábana” a la concentración del 75% no presenta actividad antimicótica frente a *Candida albicans* ATCC 10231.
- El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* L. “guanábana” a la concentración del 100% no presenta actividad antimicótica frente a *Candida albicans* ATCC 10231.

VI. RECOMENDACIONES

- Realizar las extracciones por diferentes métodos a fin de garantizar un mayor rendimiento del extracto.
- Realizar la separación de los metabolitos secundarios del extracto etanólico de las hojas de *Annona muricata* L. “guanábana”.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Musini, J.P. Rao y A. Giri, "Actividad antiproliferativa y captadora de radicales libres por los fitoquímicos de *Salacia oblonga* Wall". Revista de fisiología y biología molecular de plantas. 21 (4), 2015.
2. O'Neill J. Abordar las infecciones resistentes a los medicamentos a nivel mundial: Informe final y recomendaciones: La revisión de la resistencia a los antimicrobianos dirigida por Jim O'Neill. Bienvenida Trust; Gobierno de SM; Londres, Reino Unido: 2016.
3. REAL ACADEMIA DE BELLAS ARTES. Dar, M. Shahnawaz, P.H. Qazi, "Descripción general de las plantas medicinales: una revisión" *The Journal of Phytopharmacology*, 6 (6): 349-351, 2017
4. MC. Rathod, N. Das, D A Dhale, "Actividad antifúngica de dos plantas medicinales contra el hongo *Candida albicans*" *Int J Pharm Bio Sci*, 6 (4): 701-706, 2015.
5. S. Thirach ,, K. Tragoolpua, S. Punjaisee, C. Khamwan, C. Jatisatienr, N. Kunyanone, "Actividad antifúngica de algunos extractos de plantas medicinales contra *Candida albicans* y *Cryptococcus neoformans*". *Acta Horticulturae*, 597, 217–221, 2003
6. S. Satish, D.C Mohana, M.P. Ranhavendra. y K.A. Raveesha, "Actividad antifúngica de algunos extractos de plantas contra importantes patógenos transmitidos por semillas de *Aspergillus* sp". *Revista de tecnología agrícola* 3 (1): 109-119. 2007
7. Yauri G y col. Actividad antifúngica del extracto etanólico de *Chenopodium ambrosioides* L. (paico), sobre *Candida albicans* cepa ATCC 10231. Tesis para optar a

la licenciatura en Farmacia y Bioquímica. Universidad Privada Autónoma del Sur. 2018.

8. Anselmo R y col. Actividad antifúngica del extracto etanólico de hojas de *lomanthus truxillensis* cabrera en cepas de *candida albicans* atcc 10231 y *aspergillus brasiliensis* atcc 16404, in vitro. Tesis para optar a la licenciatura en Farmacia y Bioquímica. Universidad Inca Garcilaso de la Vega. 2018.
9. Del Aguila A. y col. Efecto inhibitor in vitro de los extractos etanólicos de *Aloysia citriodora* Palau, *Annona muricata* L. y *Desmodium molliculum* (Kunth) DC. sobre *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*. Para optar al Título Profesional de Licenciatura (a) en Biología - Microbiología - Parasitología. Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo. Perú -2019.
10. GUILLÉN FERNÁNDEZ, Eliana; CHÁVEZ DE REBISSO, Marianela. Actividad antibacteriana in vitro del extracto etanólico de *annona muricata* (graviola) sobre *Streptococcus mutans* y *lactobacillus*. *Veritas*, [S.l.], v. 13, n. 1 p. 111-116, junio de 2019. ISSN 1684-7822. Disponible en: <<https://revistas.ucsm.edu.pe/ojs/index.php/veritas/article/view/188>>.
11. Figueroa R. et al. EFECTO ANTIMICROBIANO IN VITRO DE “*annona muricata*” SOBRE *Enterococcus faecalis* DE CANALES RAÍCES INFECTADOS EN NIÑOS 2018, .24-40,
12. Abadie R y col. ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS VEGETALES SOBRE CEPAS AISLADAS DEL HARDWARE INFORMATIVO DEL HOSPITAL CÉSAR GARAYAR - IQUITOS. PARA OPTAR POR EL TÍTULO PROFESIONAL DE: BIÓLOGO. UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA AMAZONIA PERUANA. Perú-2014.

13. Kebede T, Gadisa E, Tufa A. Evaluación de actividades antimicrobianas y cribado fitoquímico de algunas plantas medicinales seleccionadas: una posible alternativa en el tratamiento de microbios multirresistentes. 2021; 16 (3) Disponible en: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0249253>
14. Dias de Freitas F, Pissinatti A, et al. Evaluación in vitro de la efectividad del extracto hidroalcohólico de cajá (*spondias mombin* l.) Y de graviola (*annona muricata* l.) Sobre microorganismos bucales. Desarrollo de Revistas Brasileñas. 2020; 6 (9). Disponible en: <https://www.brazilianjournals.com/index.php/BRJD/article/view/16377>
15. Mithun B y col. Eficacia antimicrobiana del extracto de hoja de guanábana (*Annona muricata*) sobre patógenos orales: un estudio in vitro. Revista de investigación clínica y diagnóstica. 2016; 10 (11) Disponible en: [10.7860/JCDR/2016/18329.8762](https://doi.org/10.7860/JCDR/2016/18329.8762)
16. Kalidindi N, Thimmaiah N, Jagadeesh N, et al. Actividades antifúngicas y antioxidantes de extractos orgánicos y acuosos de *Annona squamosa* Linn. sale de. Revista de análisis de alimentos y medicamentos. 2015; 23 (4): 795–802. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2015.04.012>
17. Zaoutis, T.E., Argon, J., Chu, J., Berlin, J.A., Walsh, T.J., Feudtner, C., 2005. La epidemiología y los resultados atribuibles de la candidemia en adultos y niños hospitalizados en los Estados Unidos: un análisis de propensión. Enfermedades infecciosas clínicas 41 (9), 1232e1239.
18. Yi, S., Sahni, N., Daniels, KJ, Lu, KL, Srikantha, T., Huang, G., Garnaas, AM, Soll, DR, 2011. Configuraciones alternativas de tipos de apareamiento (a / a versus a / a o a / a) de *Candida albicans* dan como resultado biopelículas alternativas reguladas por diferentes vías. PLoS Biology 9 (8), e1001117

19. Vandeputte, P., Pineau, L., Larcher, G., Noel, T., Brèthes, D., Chabasse, D., Bouchara, JP, 2011. Mecanismos moleculares de resistencia a la 5-fluorocitosina en mutantes de laboratorio de *Candida glabrata* . *Micopatología* 171 (1), 11e21.
20. Pande, K., Chen, C., Noble, S.M., 2013. El paso a través del intestino de los mamíferos desencadena un cambio fenotípico que promueve el comensalismo de *Candida albicans*. *Nature Genetics* 45 (9), 1088.
21. Pfaller, M.A., Castanheira, M., Messer, S.A., Moet, G.J., Jones, R.N., 2010. Variación en *Candida* spp. Distribución y tasas de resistencia a los antimicóticos entre los aislados de infecciones del torrente sanguíneo por edad del paciente: informe del programa de vigilancia de antimicrobianos SENTRY (2008-2009). *Microbiología diagnóstica y enfermedades infecciosas* 68 (3), 278e283
22. Kumar, A., Prakash, A., Singh, A., Kumar, H., Hagen, F., Meis, JF, Chowdhary, A., 2016. Complejo de especies de *Candida haemulonii*: una especie emergente en la India y su diversidad genética evaluado con secuencia de multilocus y análisis de polimorfismo de longitud de fragmento amplificado. *Microbios e infecciones emergentes* 5 (5), e49
23. Kam, A.P., Xu, J., 2002. Diversidad de levaduras comensales dentro y entre huéspedes sanos. *Microbiología diagnóstica y enfermedades infecciosas* 43 (1), 19e28.
24. Alexander, BD, Johnson, MD, Pfeiffer, CD, Jiménez-Ortigosa, C., Catania, J., Booker, R., Castanheira, M., Messer, SA, Perlin, DS, Pfaller, MA, 2013. Aumento de equinocandina resistencia en *Candida glabrata*: el fracaso clínico se correlaciona con la presencia de mutaciones de FKS y concentraciones inhibitorias mínimas elevadas. *Enfermedades infecciosas clínicas* 56 (12), 1724e1732

25. Baixench, MT, Aoun, N., Desnos-Ollivier, M., García-Hermoso, D., Bretagne, S., Ramires, S., Piketty, C., Dannaoui, E., 2007. Resistencia adquirida a las equinocandinas en *Candida albicans*: reporte de caso y revisión. *Revista de quimioterapia antimicrobiana* 59 (6), 1076e1083.
26. Bethea, E.K., Carver, B.J., Montedonico, A.E., Reynolds, T.B., 2010. El regulón de inositol controla la viabilidad en *Candida glabrata*. *Microbiología* 156 (2), 452e462.
27. Brown, G.D., Denning, D.W., Gow, N.A., Levitz, S.M., Netea, M.G., White, T.C., 2012. Asesinos ocultos: infecciones fúngicas humanas. *Ciencia Medicina traslacional* 4 (165), 165rv13-165rv13.
28. Coleman, D.C., Bennett, D.E., Sullivan, D.J., Gallagher, P.J., Henman, M.C., Shanley, D.B., Russell, R.J., 1993. *Candida* oral en la infección por VIH y el SIDA: nuevas perspectivas / nuevos enfoques. *Revisiones críticas en microbiología* 19 (2), 61e82.
29. Jones, T., Federspiel, NA, Chibana, H., Dungan, J., Kalman, S., Magee, BB, Newport, G., Thorstenson, YR, Agabian, N., Magee, PT, Davis, RW, 2004. La secuencia del genoma diploide de *Candida albicans*. *Actas de la Academia Nacional de Ciencias* 101 (19), 7329e7334.
30. Ng, T.S., Desa, M.N.M., Sandai, D., Chong, P.P., Than, L.T.L., 2016. El crecimiento, la formación de biopelículas, la susceptibilidad antifúngica y la resistencia al estrés oxidativo de *Candida glabrata* se ven afectados por diferentes concentraciones de glucosa. *Infección, genética y evolución* 40, 331e338.
31. Park, S., Kelly, R., Kahn, JN, Robles, J., Hsu, MJ, Register, E., Li, W., Vyas, V., Fan, H., Abruzzo, G., Flattery, A., 2005. Las sustituciones específicas en el

- objetivo de equinocandina Fks1p explican la susceptibilidad reducida de *Candida* sp. aislamientos. *Agentes antimicrobianos y quimioterapia* 49 (8), 3264e3273.
32. Skiest, DJ, Vazquez, JA, Anstead, GM, Graybill, JR, Reynes, J., Ward, D., Hare, R., Boparai, N., Isaacs, R., 2007. Posaconazole para el tratamiento de azole-candidiasis orofaríngea y esofágica refractaria en sujetos con infección por VIH. *Enfermedades infecciosas clínicas* 44 (4), 607e614.
33. Albuquerque, P., Casadevall, A., 2012. Quorum sensing in fungiea review. *Micología médica* 50 (4), 337e345
34. Lee, W.G., Shin, J.H., Young, U., Kang, M.G., Kim, S.H., Park, K.H., Jang, H.C., 2011. Los primeros tres casos informados de fungemia nosocomial causada por *Candida auris*. *Revista de microbiología clínica* 49 (9), 3139e3142.
35. Tscherner, M., Schwarzmüller, T., Kuchler, K., 2011. Patogenia y resistencia a los fármacos antifúngicos del patógeno fúngico humano *Candida glabrata*. *Productos farmacéuticos* 4 (1), 169e186
36. Lee, W.G., Shin, J.H., Young, U., Kang, M.G., Kim, S.H., Park, K.H., Jang, H.C., 2011. Los primeros tres casos informados de fungemia nosocomial causada por *Candida auris*. *Revista de microbiología clínica* 49 (9), 3139e3142.
37. Löffler, J., Kelly, S.L., Hebart, H., Schumacher, U., Lass-Flörl, C., Einsele, H., 1997. Análisis molecular de *cyp51* a partir de cepas de *Candida albicans* resistentes a fluconazol. *Cartas de microbiología FEMS* 151 (2), 263e268.
38. Rojas R, Bustamante B, Bauer J, Fernández I, Albán J, Lock O. Antimicrobial activity of selected Peruvian medicinal plants. *J. Ethnopharmacol*, 2003; 88(2): 199-204

<p>Anexo 01: Matriz de consistencia: Evaluación de la eficacia antimicótica del extracto hidroalcohólico de hojas de <i>Annona muricata</i> L. “guanabana” frente a <i>Candida albicans</i> ATCC 10231</p>			
<p>Problema general</p> <p>¿El extracto hidroalcohólico de hojas <i>Annona muricata</i> L. “guanabana” frente a <i>Candida albicans</i> ATCC 10231?</p> <p>Problemas específicos</p> <p>¿El extracto hidroalcohólico de hojas <i>Annona muricata</i> L. “guanabana” a la concentración de 25% presentará eficacia antimicótica del frente a <i>Candida albicans</i> ATCC 10231?</p> <p>¿El extracto hidroalcohólico de hojas <i>Annona muricata</i> L. “guanabana” a la concentración de 50% presentará eficacia antimicótica del frente a <i>Candida albicans</i> ATCC 10231?</p> <p>¿El extracto hidroalcohólico de hojas <i>Annona muricata</i> L. “guanabana” a la concentración de 75% presentará eficacia antimicótica del frente a <i>Candida albicans</i> ATCC 10231?</p> <p>¿El extracto hidroalcohólico de hojas <i>Annona muricata</i> L. “guanabana” a la concentración de 100% presentará eficacia antimicótica del frente a <i>Candida albicans</i> ATCC 10231?</p>	<p>Objetivos generales</p> <p>Evaluar la eficacia antimicótica del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Annona muricata</i> L. “guanabana” frente a <i>Candida albicans</i> ATCC 10231.</p> <p>Objetivos específicos</p> <p>Determinar la eficacia antimicótica del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Annona muricata</i> L. “guanabana” a la concentración de 25% frente a <i>Candida albicans</i> ATCC 10231.</p> <p>Determinar la eficacia antimicótica del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Annona muricata</i> L. “guanabana” a la concentración de 50% frente a <i>Candida albicans</i> ATCC 10231.</p> <p>Determinar la eficacia antimicótica del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Annona muricata</i> L. “guanabana” a la concentración de 75% frente a <i>Candida albicans</i> ATCC 10231.</p> <p>Determinar la eficacia antimicótica del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Annona muricata</i> L. “guanabana” a la concentración de 100% frente a <i>Candida</i></p>	<p>Hipótesis General</p> <p>Ho: El extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Annona muricata</i> L. “guanabana” no evidencia eficacia antimicótica frente a <i>Candida albicans</i> ATCC 10231.</p> <p>H1: El extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Annona muricata</i> L. “guanabana” evidencia eficacia antimicótica frente a <i>Candida albicans</i> ATCC 10231.</p>	<p>Metodología</p> <p>El tipo de investigación será básica y de nivel correlacional.</p> <p>Es un estudio de diseño experimental, analítico cualitativo y cuantitativo.</p> <p>La población estará representada por las plantas de <i>Annona muricata</i> L. “guanábana”.</p> <p>Se utilizarán las hojas de <i>Annona muricata</i> L. “guanábana” a una cantidad promedio de 750 gramos.</p> <p>Variable dependiente: Eficacia antimicótica contra <i>Candida albicans</i> ATCC 10231</p> <p>Variable independiente: Extracto etanólico de las hojas de <i>Annona muricata</i> L. “guanábana”</p>

	<i>albicans</i> ATCC 10231.		
--	-----------------------------	--	--

Anexo 02: Clasificación taxonómica

JOSÉ RICARDO CAMPOS DE LA CRUZ
CONSULTOR BOTÁNICO
Email: jocamde@gmail.com
Cel: 963689079



CERTIFICACIÓN DE IDENTIFICACION BOTÁNICA

JOSÉ RICARDO CAMPOS DE LA CRUZ, BIÓLOGO COLEGIADO - CBP N° 3796 - INSCRITO EN EL REGISTRO DE PROFESIONALES QUE REALIZAN CERTIFICACIÓN DE IDENTIFICACIÓN TAXONÓMICA DE ESPECÍMENES Y PRODUCTOS DE FLORA - RESOLUCIÓN DIRECTORAL N° 0311-2013- MINAGRI-DGFFS-DGEFFS.

CERTIFICA:

Que, SILVERIA URBANO PALOMINO y HEDY VERAMENDI GOMEZ, tesis de la Universidad Privada de Huancayo Franklin Roosevelt, con fines de investigación han solicitado la identificación y certificación botánica de la planta conocida con el nombre vulgar de “guanábana”, la muestra ha sido, identificada como *Annona muricata* L. Según la base de Trópicos que sigue el Sistema moderno de clasificación de las angiospermas (APG), publicado en 1998 por el Grupo para la Filogenia de las Angiospermas, revisado por APG II (2003), APG III (2009) y APG IV (2016), el sistema APG, evita el uso de la nomenclatura taxonómica clásica por arriba de orden y según Mark W. Chase & James L. Reveal (2009) consideran a todas las plantas verdes en la Clase Equisetopsida, la especie estudiada ocupa la siguiente posesión taxonómica:

Reino: Plantae
Clase: Equisetopsida
Subclase: Magnoliidae
Superorden: Magnoliales
Orden: Magnoliales
Familia: Annonaceae
Género: *Annona*
Especie: *Annona muricata* L.

Nombre vulgar: “guanábana”

Se expide la presente certificación con fines de investigación científica.

Lima, 05 de marzo del 2022


José R. Campos De La Cruz
BIÓLOGO
C.B.P. 3796

Jr. Sánchez Silva N° 156- piso 2. Urb. Santa Luzmila. Lima 07
Email: jocamde@gmail.com; joricampos@yahoo.es

Anexo 03: Certificado de la evaluación antimicótica del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* L. (guanábana) frente a *Candida albicans* ATCC 10231.



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



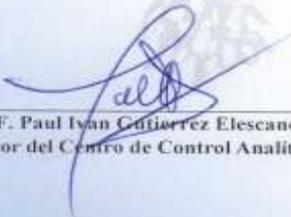
PROTOCOLO DE ANÁLISIS N° 00198 -CPF-2022

ORDEN DE ANÁLISIS : 0198-2022
SOLICITADO POR : HEDY VERAMENDI GÓMEZ
DIRECCIÓN : -
MUESTRA : EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE HOJAS DE *Annona muricata*
 : L. (Guanábana)
CANTIDAD : 1 frasco por 3.07 g aprox.
FECHA DE RECEPCIÓN : 13 de mayo de 2022
FECHA DE FABRICACIÓN : -
FECHA DE VENCIMIENTO : -

MICROORGANISMO	EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE HOJAS DE <i>Annona muricata</i> L. (Guanábana)					
	Longitud de halos de inhibición (mm)					
	Control positivo	Control negativo	100%	75%	50%	25%
<i>Candida albicans</i>	19.28	6	6	6	6	6
	19.72	6	6	6	6	6
	18.81	6	6	6	6	6

- * El tamaño de los pocillos es de 6 mm, por lo tanto, cuando se reporta esta medida indica que no hay formación de halos de inhibición.
- * Dilución de la muestra: 1.3322 g del extracto hidroalcohólico de las hojas *Annona muricata* L. (Guanábana) en 2.25 mL de agua destilada.
- * Volumen inoculado: 40 µL.
- * Concentración del inóculo: 1×10^8 UFC/mL.
- * Control positivo: Fluconazol 0.2 mg/mL.
- * Control negativo: agua destilada.
- * 100%, 75%, 50% y 25%: diluciones del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* L. (Guanábana).

Lima, 02 de Junio del 2022


Q.F. Paul Ivan Gutiérrez Eleascano
Director del Centro de Control Analítico



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

Jr. Puno N° 1002 Jardín Botánico Lima 1 - Perú
(511) 619-7000 anexo 4824 Ap. Postal 4559 - Lima 1
E-mail: cca.farmacia@unmsm.edu.pe http://farmacia.unmsm.edu.pe





Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

Specifications Microorganism Name: Candida albicans Catalog Number: 0443 Lot Number: 443-1258** Reference Number: ATCC® 10231™** Passage from Reference: 3	Expiration Date: 2023/4/30 Release Information: Quality Control Technologist: Jackie L. Mackedanz Release Date: 2021/5/12
---	--

Performance	
Macroscopic Features: Small to medium, white, circular, convex, dull colonies. Microscopic Features: Gram positive, ovoidal, budding yeast cells.	Medium: Nutrient Method: Gram Stain (1)
ID System: MALDI-TOF (1) See attached ID System results document.	Other Features/ Challenges: Results (1) Germ Tube Test: positive (1) Chlamydospore production: positive  Amanda Kuperus Quality Control Manager AUTHORIZED SIGNATURE

**Disclaimer: The last digit(s) of the lot number appearing on the product label and packing slip are merely a packaging event number. The lot number displayed on this certificate is the actual base lot number.

Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information.

Individual products are traceable to a recognized culture collection.



(*) The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC, Microbiologics, Inc. is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures.

(1) These tests are accredited to ISO/IEC 17025.



Anexo 04: Certificado de la cepa *Candida albicans* ATCC 10231

Anexo 05: Evidencias fotográficas de la preparación del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* L. (guanábana)

