

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL
DE HUAMANGA

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA



**Actividad antimicótica del acíbar de las hojas de
Aloe vera L. “sávila” frente a *Candida albicans*
ATCC 10231. Ayacucho 2016**

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE
QUÍMICO FARMACÉUTICA

PRESENTADO POR LA:
Bach. ROJAS GARCÍA, Betza

AYACUCHO - PERÚ
2017

A Dios, a mis padres, hermanos y amigos

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga por ser la institución donde me forme profesionalmente. A la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica y a su plana docente, por contribuir a mi formación profesional.

Mi más profundo agradecimiento y reconocimiento al Dr. Tinco Jayo Johnny Aldo y al Biólogo Cárdenas López Víctor Luis, por su asesoría, aportes y sugerencia durante el desarrollo del presente trabajo de investigación, a mis amigas: Valentina Isabel Vallejo Contreras, Lizeth Taipe Silvera, Luzmila Ore Curo, Elizabeth Amao Espinoza, por su valioso apoyo y amistad.

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTOS	v
ÍNDICE GENERAL	vii
ÍNDICE DE TABLAS	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	x
ÍNDICE DE ANEXOS	xiii
RESUMEN	xiii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	3
2.1. Antecedentes del estudio	3
2.2. Redacción del marco teórico	4
2.2.1. Aspectos botánicos de <i>Aloe vera</i> L. “sávila”	4
2.2.2. Clasificación sistémica de <i>Aloe vera</i> L. “sávila”	5
2.2.3. Distribución geográfica de <i>Aloe vera</i> L. “sávila”	5
2.2.4. Usos medicinales de <i>Aloe vera</i> L. “sávila”	5
2.2.5. Composición química de <i>Aloe vera</i> L. “sávila”	6
2.2.6. Hongos	7
2.2.7. Candidiasis	7
2.2.8. <i>Candida albicans</i>	7
2.2.9. Cultivo e identificación de los hongos	9
2.2.10. Patogenia y patología de <i>Candida albicans</i>	9
2.2.11. Antimicóticos	9
2.2.12. Nistatina	11
III. MATERIALES Y MÉTODOS	13
3.1. Lugar de ejecución	13
3.2. Población	13
3.3. Muestra	13
3.4. Microorganismo de ensayo	13
3.5. Procedimiento metodológico	13
3.5.1. Recolección de la muestra	13
3.5.2. Obtención del acíbar	13
3.5.3. Identificación de los metabolitos que posee el acíbar de las hojas de <i>Aloe vera</i> L.	14

3.5.4. Determinación de las constantes organolépticas o fisicoquímicas	14
3.5.5. Evaluación antimicótica del acíbar de las hojas de <i>Aloe vera</i> L. "sávilá"	15
3.5.6. Determinación de la CMI	16
3.5.7. Determinación de la CMF	17
3.6. Diseño experimental	17
3.7. Análisis de datos	18
IV. RESULTADOS	19
V. DISCUSIÓN	25
VI. CONCLUSIONES	31
VII. RECOMENDACIONES	33
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	35
ANEXOS	39

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Clasificación taxonómica de <i>Aloe vera</i> L. "sávila".	5
Tabla 2. Clasificación taxonómica de <i>Candida albicans</i>	7
Tabla 3. Diluciones decrecientes del acíbar de los hojas de <i>Aloe vera</i> L. "sávila"; Ayacucho 2017.	17
Tabla 4. Características organolépticas y fisicoquímicas del acíbar de las hojas de <i>Aloe vera</i> L. "sávila"; Ayacucho 2017.	20
Tabla 5. Metabolitos secundarios presentes en el acíbar de las hojas de <i>Aloe vera</i> L. "sávila"; Ayacucho 2017.	21
Tabla 6. Concentración mínima inhibitoria (CMI) y concentración mínima fungicida (CMF) del acíbar de las hojas de <i>Aloe vera</i> L. "sávila"; Ayacucho 2017.	22

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Porcentaje de inhibición del acíbar de las hojas de <i>Aloe vera</i> L. "sávila" en comparación con la Nistatina (control positivo); Ayacucho 2017.	23
Figura 2. Porcentaje de inhibición del acíbar de las hojas de <i>Aloe vera</i> L. "sávila" en comparación con la Nistatina (control positivo); Ayacucho 2017.	24

ÍNDICE DE ANEXOS

	Pág.
Anexo 1. Certificado de identificación sistemática de <i>Aloe vera</i> L. "sávila".	40
Anexo 2. Certificado de cepa de <i>Candida albicans</i> ATCC 10231.	41
Anexo 3. Esquema del flujograma del estudio de la actividad antimicótica del acíbar de las hojas de <i>Aloe vera</i> L. "sávila"; Ayacucho 2017.	42
Anexo 4. Análisis de distribución de los halos de inhibición del acíbar de las hojas de <i>Aloe vera</i> L. "sávila"; Ayacucho 2017.	43
Anexo 5. Análisis de varianza de los halos de inhibición del acíbar de las hojas de <i>Aloe vera</i> L. "sávila"; Ayacucho 2017.	44
Anexo 6. Prueba de comparación múltiple de Tukey de los halos de inhibición del acíbar de las hojas de <i>Aloe vera</i> L. "sávila"; Ayacucho 2017.	45
Anexo 7. Prueba de comparación múltiple de Dunnett de los halos de inhibición del acíbar de las hojas de <i>Aloe vera</i> L. "sávila"; Ayacucho 2017.	46
Anexo 8. Diámetro de halos de inhibición (mm) del acíbar de las hojas de <i>Aloe vera</i> L. "sávila". Sobre <i>Candida albicans</i> ATCC 10231; Ayacucho 2017.	47
Anexo 9. Diámetro de halos de inhibición (mm) del acíbar de las hojas de <i>Aloe vera</i> L. "sávila". Sobre <i>Candida albicans</i> ATCC 10231; Ayacucho 2017.	48
Anexo 10. Fotografía de la planta, el lavado y la extracción del acíbar de las hojas de <i>Aloe vera</i> L. "sávila"; Ayacucho 2017.	49
Anexo 11. Fotografías de la solubilidad del acíbar de las hojas de <i>Aloe vera</i> L. "sávila"; Ayacucho 2017.	50
Anexo 12. Fotografías del tamizaje fotoquímico del acíbar de las hojas de <i>Aloe vera</i> L. "sávila"; Ayacucho 2017.	51
Anexo 13. Fotografías de las concentraciones del acíbar de las hojas de <i>Aloe vera</i> L. "sávila"; Ayacucho 2017.	52
Anexo 14. Reactivación de cepas de <i>Candida albicans</i> ATCC 10231; Ayacucho 2017.	53

Anexo 15. Fotografías del procedimiento para determinar el halo de inhibición del blanco, estándar y las diferentes concentraciones del acíbar de las hojas de <i>Aloe vera L.</i> “sávila”; Ayacucho 2017	54
Anexo 16. Halos de inhibición a las concentración de 1%; 3%; 5%; 7% (A) y 10%; 30%; 50% y 70% (B) del acíbar de las hojas de <i>Aloe vera L.</i> “sávila”; Ayacucho 2017.	55
Anexo 17. Concentración mínima inhibitoria (CMI) y concentración mínima fungistática (CMF) de acíbar de las hojas de <i>Aloe vera L.</i> “sávila”; Ayacucho 2017.	56
Anexo 18. Identificación de Antraquinonas en acíbar de hojas de <i>Aloe vera L.</i> “sávila”; Ayacucho 2017.	57
Anexo 19. Matriz de consistencia.	58

RESUMEN

El presente trabajo de investigación se desarrolló con el propósito de evaluar la actividad antimicótica del acíbar de las hojas de *Aloe vera* L. "sábila" sobre *Candida albicans* ATCC 10231, la investigación fue realizado en los laboratorios de la escuela profesional de Farmacia y Bioquímica de la Facultad de Ciencias de la Salud, Microbiología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga y en los ambientes del laboratorio de Control de Calidad de la Industria Farmacéutica IQFARMA, de Julio del 2016 a Junio del 2017. Utilizando muestras colectadas en distrito de Huamanguilla, provincia de Huanta de la región Ayacucho. Ubicado a 2750 m.s.n.m. La actividad antifúngica se evaluó mediante el método de difusión en agar frente a *Candida Albicans* ATCC 10231, CMI y CMF por el método de microdilución colorimétrico, utilizando como control positivo la Nistatina. Los datos obtenidos fueron evaluados estadísticamente por el método ANOVA y comparación múltiple de TUKEY y DUNNET. El acíbar de las hojas de *Aloe vera* L. posee actividad antimicótica sobre una cepa de *Candida albicans* ATCC 10231, el acíbar es de color amarillo, olor característico, sabor amargo, aspecto líquido viscoso, es poco soluble en agua, hexano y tolueno, es soluble en etanol, metanol, cloroformo y dimetilsulfoxido, el pH es 4,70 y ceniza 0,017%, Las diferentes concentraciones (10%; 30%, 50 y 70%) del acíbar de las hojas de *Aloe vera* L. "sábila" poseen actividad antimicótica sobre cepas de *Candida albicans* ATCC 10231, siendo 10%; 30% y 50% con sensibilidad intermedia y 70% presenta sensibilidad, CMI y CMF del acíbar de las hojas de *Aloe vera* L. "sábila" es 0,2734 % y 0,5469 % respectivamente.

Palabras clave: actividad antimicótica, *Aloe Vera* L.

I. INTRODUCCIÓN

La candidiasis se considera una de las infecciones oportunistas más frecuente en seres humanos. Su incidencia ha aumentado considerablemente en los últimos 20 años. Las levaduras son causantes del 7,45% de las micosis, el 25% de las micosis superficiales y entre el 75 y 88% de las infecciones fúngicas nosocomiales.¹ *Candida albicans* es la especie más patógena y su virulencia se debe a un conjunto de atributos relacionados con su habilidad para evadir a los mecanismos de defensa del hospedador, de resistir al tratamiento antifúngico o de lesionar las células y tejidos que invade. Los factores de virulencia están controlados por diferentes genes que se expresan en un número determinado y momento concreto y que determinan el fenotipo y virulencia de cada aislamiento.²

Actualmente los fármacos disponibles en el mercado para tratar la micosis, tiene una toxicidad importante, producen recurrencia o causan resistencia, razón por la cual se está procurando nuevos agentes antifúngicos más potentes pero sobretodo más seguros que los existentes actualmente. Desafortunadamente, las células fúngicas y humanas no son muy diferentes, comparten gran parte de las vías del metabolismo intermediario, utilizan enzimas muy similares y no es fácil encontrar blancos que ofrezcan la selectividad requerida para obtener un antifúngico seguro.³ Los compuestos derivados de plantas son de interés en este contexto porque ellos comprenden sustitutos más seguros o más eficaces como fuente de agentes antimicrobianos que los producidos en la industria.³ de 400 especies de Aloe, se ha demostrado científicamente que son cuatro tipos lo que presenta mayores propiedades medicinales. No obstante *Aloe barbadensis Miller*, considerada como la más utilizada en la medicina curativa y la más popular en el mundo entero llamada comúnmente *Aloe vera*.⁴ Las antraquinonas más abundantes en la planta de *Aloe vera* son la aloína A (Barbaloina) y aloína

B (isobarbaloina),⁵ entre las propiedades demostradas es la capacidad de inhibir crecimiento de hongos.³

Por las consideraciones mencionadas, este trabajo de investigación pretende demostrar la actividad antimicótica del acíbar de las hojas de *Aloe vera*, para el cual se planteó los siguientes objetivos:

Objetivo General

Evaluar la actividad antimicótica del acíbar de las hojas de *Aloe vera* L. "sávilas" sobre *Candida albicans* ATCC 10231.

Objetivos Específicos

- Realizar el análisis organoléptico y fisicoquímico del acíbar de las hojas de *Aloe vera* L. "sávilas".
- Comparar la efectividad antimicótica de las diferentes concentraciones (10%; 30%; 50 y 70%) del acíbar de las hojas de *Aloe vera* L. "sávilas" frente a la Nistatina 100 000 U.I sobre cepas de *Candida albicans* ATCC 10231.
- Determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) del acíbar de las hojas de *Aloe vera* L. "sávilas".
- Determinar la concentración mínima fungicida (CMF) del acíbar de las hojas de *Aloe vera* L. "sávilas".

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes del estudio

En 2012 un trabajo; de investigación pretendió demostrar la actividad antimicrobiana y fungicida de los macerados acuosos y alcohólicos de las hojas de *Aloe vera* L, que contenían derivados antraquinónicos, que se les agrego soluciones de 1,5% de sulfato cúprico pentahidratado, 1% de cloruro férrico, 1% de nitrato de plata, y 1,5% de bismuto nitrogenado, frente a cepas de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Aspergillus niger* y solamente las soluciones acuosas de sulfato de cobre presentaron actividad fungicida.⁶

Cayo y col. evaluaron la eficacia antimicótica del *Aloe Vera* y la sangre de grado en comparación al Gynocanesten ®; el grupo experimental evaluado estuvo constituido por veintisiete alumnas del cuarto ciclo de la Escuela Profesional de obstetricia de la Facultad de Medicina Humana y Ciencias de la Salud de la UAP sede Huacho, concluyeron que el *Aloe Vera* y sangre de grado, fueron tan eficaces como la aplicación del producto de control Gynocanesten ®.⁷

Al Formular un producto galénico para el tratamiento de quemaduras con extractos de *Aloe Vera*, *Schinopsis haenkeana*, *Propolis* y *Myrciaria dubia*. El tratamiento de estos productos en pacientes, evidenció una aceleración en el proceso de cicatrización y la reducción de queloides respecto a los tratamientos convencionalmente aplicados.⁸

Mediante la evaluación de métodos para determinar la sensibilidad antifúngica, donde se ha desarrollado el método de difusión con discos se demostró que el medio de cultivo no influye sobre el diámetro de los halos de inhibición. En general, los resultados son dependientes de la combinación medio y especie ensayada.⁹

Al evaluar la actividad antimicrobiana de las hojas de *Azadirachta indica*, bulbos de *Allium cepa* y el extracto metanólico del gel de *Aloe Vera*, demostraron poseer actividad contra seis bacterias; dos bacterias gram positivas, *Bacillus Subtilis* y *Staphylococcus aureus*; cuatro bacterias Gram negativas; *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Salmonella typhi*, y en contra de dos hongos; *Aspergillus níger* y *Candida albicans*.¹⁰

Se evidenció la actividad de *Aloe barbadensis miller* con efecto inhibitorio frente a un panel de bacterias y hongos, se demostró que cinco fracciones tienen actividad antimicrobiana. La fracción uno tenía la actividad antibacteriana con mayor eficacia, que es capaz de inhibir el crecimiento de bacterias tanto Gram - positivas y Gram negativas, así como la inhibición del crecimiento de una cepa resistente a la nistatina del hongo *Aspergillus niger*.¹¹

Se realizó un estudio para demostrar la actividad antimicrobiana de un extracto acuoso del gel de *Aloe vera*, en cuatro concentraciones 10; 30; 50 y 70 mg/mL y etanol al 50%, mediante el sistema de difusión en discos, con una mínima cantidad de cepas de hongos *Aspergillus níger* en el medio de cultivo agar sabourand con la intención de que este extracto inhiba el crecimiento del hongo. Los resultados indican que solo frente al etanol al 50% se obtiene una ligera actividad inhibitoria, al compararla con otras concentraciones estudiadas en donde la respuesta fue negativa.⁴

Rivero *et al.*, en un trabajo de investigación abordaron la obtención de un extracto de la corteza de *Aloe vera* L., tras su posterior caracterización y la determinación de la efectividad media frente al virus Herpes simple tipo 1 (HSV-1). Se concluyó que el extracto obtenido y caracterizado presenta una concentración de antracénoderivados totales de $25,0 \pm 5,0$ mg %, dicho extracto presenta actividad antiviral in vitro con una toxicidad media de $3,8 \pm 0,3$ mg/mL y dosis efectiva de $0,80 \pm 0,05$ mg/mL.¹²

2.2. Redacción del marco teórico

2.2.1. Aspectos botánicos de *Aloe vera* L. “sávila”

La planta *Aloe vera* L. es la variedad más utilizada en todo el mundo para la medicina curativa; arbusto acaule o con tallo corto cubierto de hojas, estolonífero, con tallo de hasta 30 cm, erecto, sin rebrotes laterales. Las hojas miden 40 – 50 por 5 – 8 cm y son densamente agrupadas en una roseta basal de hasta 20 hojas; son estrechamente triangulares-lanceoladas, canaliculadas, rectas, erecto-patentes, herbáceas, de un verde-grisáceo, glaucas, sin manchas

excepto unas motas claras en los renuevos jóvenes, dentadas solo en el margen, con dientes de unos 2 mm, gruesos, duros, retrorsos, de un color más claro que el del limbo. La inflorescencia, incluido el pedúnculo, tiene unos 70 - 100 cm de alto, en racimo de 30 - 50 por 5-6 cm, simple, densa en la antesis y en la fructificación. Las brácteas florales ya presentes esparcidas y escasas en el tallo floral por debajo de la inflorescencia tienen 8 - 11 por 5 - 6 mm y son triangulares, acuminadas, membranáceas y con ligeras crestas pardas paralelas. Las flores, cortamente pediceladas, son sub-erectas en la preantesis, patentes en la antesis y luego péndulas al madurar y en la fructificación; los pedicelos tienen 4 - 5 mm, son algo acrescentes y llegan hasta 7 mm en la fructificación. El perianto, de 25-30 mm, es tubuloso, levemente estrechado en la base, y de color amarillo; los tépalos externos están soldados en la mitad inferior de su longitud. Los estambres, miden 30 - 35 mm. El fruto es una cápsula de 20 - 25 por 6 - 8 mm, con semillas medio-centimétricas.¹³

2.2.2. Clasificación sistemática de *Aloe vera* L. “sávila”

Tabla 1. Clasificación taxonómica de *Aloe vera* L. “sávila”

DIVISION	MAGNOLIOPHYTA
CLASE	LILIOPSIDA
SUB CLASE	LILIIDAE
ORDEN	LILIALES
FAMILIA	LILIACEAE
GENERO	<i>Aloe</i>
ESPECIE	<i>Aloe vera</i> L.
N.V.	“sávila”

Fuente: Certificado emitido por el *Herbarium Huamanguensis* – 2016 (Anexo 1)

2.2.3. Distribución geográfica de *Aloe vera* L. “sávila”

Aloe vera L. se distribuye en arenales y roquedos costeros, alterados y nitrificados desde el nivel del mar hasta 200 m de altitud. Probablemente originaria de Arabia y naturalizada en regiones subtropicales y templadas de ambos hemisferios, incluido el Mediterráneo; se ubican en lugares trópicos, se registran en Estados Unidos, México, Bolivia, Ecuador, Perú, Jamaica y Puerto Rico; se cultiva prácticamente en todo el mundo en los huertos familiares por sus propiedades medicinales y también ornamentales.¹⁴

2.2.4. Usos medicinales de *Aloe vera* L. “sávila”

La planta es ampliamente usada en distintos males, se han reportado estudios de la actividad antibacteriana, considerándolo como bacteriostático contra

bacterias tales como *Staphylococcus auerus*, *Streptococcus pyogenes*, *Serratia marcescens*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhosa* y *Mycobacterium tuberculosis*, también se han reportado estudios que refuerzan las propiedades farmacológicas del gel, tales como antivirales, antifúngicos, antineoplásicos, endocrinos y laxantes.¹⁵

En cosmética se usa cada vez más. La mayoría de los fabricantes responsables extraen y purifican los extractos evitando los componentes más irritantes; también, actualmente, se usa de forma directa mediante procedimientos domésticos muy rudimentarios, dando lugar a productos que pueden causar irritación (dermatitis, eccema) o reacciones alérgicas (urticaria).¹⁵

2.2.5. Composición química de *Aloe vera* L. “sávila”

Aminoácidos: veinte aminoácidos requeridos por los seres humanos se han encontrado, incluyendo 7 de los 8 esenciales, que el cuerpo no puede sintetizar.¹⁶

Antraquinona: *Aloe vera*, proporciona 12 antraquinonas, incluyendo emodina de aloe, ácido aloético, aloína, antracenos, anthranon, barbaloin, Ácido crisofánico, emodina, aceite etéreo, éster de ácido cinnemónico, isobarbaloina.¹⁶

Enzimas: Hay 8 enzimas aisladas de *Aloe vera*, incluyendo aliase, alcalina fosfatasa, amilasa, arboxipeptidasa, Catalasa, celulasa, lipasa, y peroxidasa.¹⁶

Hormonas: Dos hormonas son conocidos de *Aloe vera*, que son auxinas y giberelinas.¹⁶

Lignina: Esta sustancia leñosa ofrece el poder penetrante del *Aloe vera* en la piel, por ello promueve la capacidad del activo de ingresar profundamente en la piel para alimentar la dermis.¹⁶

Minerales: *Aloe vera*, proporciona nueve minerales: calcio, cromo, cobre, hierro, magnesio, el manganeso, potasio, sodio y zinc.¹⁶

Ácido salicílico: Actúa como analgésico.¹⁶

Saponinas: Estas sustancias jabonosas forman 3 % del gel y son los limpiadores generales, teniendo propiedades antisepticas.¹⁶

Esteroles: Los esteroles son agentes antiinflamatorios, mientras que lupeol también posee un antiséptico, posee también propiedades analgésicas.¹⁶

Vitaminas: *Aloe vera*, contiene muchas vitaminas, excepto Vitamina D. Las vitaminas que se encuentran incluyen vitaminas A, C, E, B (la tiamina, niacina, La riboflavina, B12), F, La colina y el ácido fólico. B y vitamina colina están involucrados en metabolismo de varios aminoácidos, B12.¹⁶

2.2.6. Hongos

Un hongo es un organismo eucariota que es miembro del reino Fungi. Los hongos son un grupo monofilético, también llamado *Eumycota*.¹⁷

2.2.6.1 Micosis

El término micosis designa a las infecciones causadas por hongos microscópicos.¹⁷

2.2.6.2 Clasificación de la micosis según ubicación

Superficial: *Malassezia Furfur*, causa Pitiriasis versicolor.¹⁸

Cutánea: Tricophyton, Epidermophyton, Microsporum, *Candida Albicans*, causa Dermatofitos (tiña piel, cuero cabelludo y uñas) Candidiasis cutánea, y de membranas mucosas.¹⁸

Subcutánea: Sporothrix Sahenki, causa *Esporotricosis*.

Profunda: Blastomyces Dermatitides, Coccidiodes Inmitis, Histoplasma Capsulatum, Paracoccidiodes Brasilienses, causa Blastomicosis Coccidiodes micosis, Histoplasmosis, Paracoccidioidemiosis.¹⁸

Profunda oportunista: Cryptococcus Neoformans Especie de Mucor y Rhisopus, causa Criptococosis Cigomicosis.¹⁸

2.2.7. Candidiasis

La candidiasis es una infección fúngica de cualquiera de las especies *Candida*, de las cuales la *Candida albicans* es la más común, la candidiasis también se conoce técnicamente como candidosis, moniliasis y oidiomicosis. La candidiasis incluye infecciones que van desde las superficiales, tales como la candidiasis oral y vaginitis, hasta las sistémicas y potencialmente mortales, conocidas como candidemias, y generalmente se limita a personas inmunocomprometidas.¹⁹

2.2.8. *Candida albicans*

Tabla 2. Clasificación taxonómica de *Candida albicans*.¹⁹

REINO	FUNGI
DIVISIÓN	MYCOTA
SUBDIVISIÓN	DEUTEROMYCOTINA
CLASE	DEUTEROMYCETES
SUB CLASE	BLASTOMYCETIDAE
FAMILIA	CRYPTOCOCEAE
GÉNERO	<i>Candida</i>
ESPECIE	<i>Albicans</i>
NOMBRE CIENTIFICO	<i>Candida albicans</i>
SINÓNIMOS	Monilla, Oidum

Es un hongo di mórfico, es decir se desarrolla de forma distinta en función de la temperatura de crecimiento, como levadura, normalmente a 37°C en el huésped y como hongo de aspecto filamentoso a 25°C en la naturaleza. Pertenece al filo Ascomycota y se reproduce de forma asexual por gemación.¹⁹

2.2.8.1. Morfología

Suele presentarse como una célula oval levaduriforme de 2 a 4 micras, con paredes finas; sin embargo, en tejidos infectados también se han identificado formas filamentosas de longitud variable, con extremos redondos de 3 a 5 micras de diámetro y pseudohifas, que son células alargadas de levadura que permanecen unidas entre sí. Las levaduras o blastosporas son microorganismos eucarióticos, las cuales se reproducen asexualmente por un proceso específico de división celular conocido como gemación. Este proceso de división implica la producción de nuevo material celular proveniente de la superficie de la blastospora. Cuando el brote o yema ha crecido y se encuentra en su tamaño óptimo, se suscita la división celular y se forma un tabique o septo entre las dos células. La forma filamentosa del hongo (hifa), es una estructura microscópica tubular, la cual contiene múltiples unidades celulares divididas por septos y puede surgir a partir de blastosporas o de hifas existentes. Esta crece continuamente por extensión apical. La apariencia microscópica de todas las especies de *Candida* es similar; todas las levaduras son Gram positivas, pero en algunas ocasiones la forma de las blastosporas puede variar de ovoide a elongada o esférica.¹⁹

2.2.8.2. Epidemiología

La frecuencia de infecciones invasoras causadas por *Candida* ha aumentado en forma importante en las últimas décadas, constituyendo actualmente la candidemia un importante agente de infección intrahospitalaria. Se ha descrito en Estados Unidos un aumento de cuatro veces las tasas de fungemia nosocomial entre 1980 y 1990, representando alrededor del 10% de todas las infecciones del torrente sanguíneo durante 1990.¹⁹

Esto se debe en gran parte a avances de la medicina, con la incorporación de nuevas modalidades terapéuticas. Algunas de ellas, como tratamientos antimicrobianos de amplio espectro, uso de nutrición parenteral, uso de catéteres intravenosos e intubación endotraqueal entre otros, son considerados factores de riesgo para esta infección. Con mayor frecuencia ocurren en pacientes que tienen condiciones de base tales como ser neonatos, prematurez, patología

oncológica en quimioterapia, terapia inmunosupresora, ser sometidos a gran cirugía y estar afectados por enfermedades severas que requieren atención en una unidad de cuidados intensivos (UCI), La candidemia, definida como la infección del torrente sanguíneo, puede derivar en la diseminación de la infección a múltiples órganos determinando la formación de microabscesos, lesiones cutáneas embólicas, abscesos renales y hepatoesplénicos, endocarditis, meningitis, artritis, osteomielitis y endoftalmitis.¹⁹

2.2.9. Cultivo e identificación de los hongos

En micología se utilizan medios específicos, como el Sabouraud, muy rico en glucosa y cuyo pH bajo (pH = 5 – 5,6) dificulta el crecimiento de las bacterias facilitando el crecimiento de los hongos. El crecimiento de levaduras (muguet y vaginitis), en cuyo caso suele ser suficiente incubar a 37°C los cultivos durante un periodo máximo de dos a tres días.²⁰

2.2.10. Patogenia y patología de *Candida albicans*

Candida albicans presenta una serie de factores de virulencia que facilitan la colonización y la infección del hospedador. Entre ellos cabe mencionar el dimorfismo o capacidad del hongo para desarrollar un crecimiento levaduriforme y filamentoso, el cual favorece la evasión de los mecanismos defensivos del hospedador. También existen otros tipos de factores de virulencia, tales como:

- Adhesinas: que permiten la unión de la célula fúngica a los receptores del hospedador o a materiales plásticos utilizados en medicina, como las prótesis y los catéteres.
- Proteinasas y fosfolipasas: Las cuales corresponden a enzimas que favorecen la diseminación por los tejidos del hospedador.
- Tigmotropismo: que permite encontrar discontinuidades entre las células y penetrar en los tejidos.
- Producción de toxinas y sustancias inmunosupresoras.²⁰

2.2.11. Antimicóticos

Las infecciones micóticas humanas se han incrementado de manera drástica en frecuencia y gravedad en años recientes, debido principalmente a los avances en cirugía, el tratamiento del cáncer y el cuidado intensivo que acompaña al aumento del uso de antimicrobianos de amplio espectro y en la epidemia del VIH. Estos cambios resultaron en un incremento en la cantidad de pacientes con riesgo de infecciones micóticas.²¹

La actividad antifúngica o antimicótica, es la propiedad que tiene una sustancia activa que en pequeñas cantidades detienen el crecimiento y desarrollo o producen la muerte de hongos, pudiendo ser fungicidas o fungistáticos, pueden ser estos de origen natural o sintéticos.²¹

Los antimicóticos locales casi siempre se usan en el tratamiento de la candidiasis oral, cutánea y vaginal.²¹

Se entiende por antifúngico o antimicótico a toda sustancia que tiene la capacidad de evitar el crecimiento de algunos tipos de hongos o incluso de provocar su muerte. Dado que los hongos además de tener usos beneficiosos para el ser humano (levadura del pan, hongos de fermentación de los quesos, los vinos, la cerveza, entre otros muchos ejemplos) forman parte del colectivo de seres vivos que pueden originar enfermedades en el ser humano, el conocimiento y uso de los antifúngicos es de vital importancia a la hora de tratar muchas enfermedades.²¹

2.2.11.1. Clasificación de los antimicóticos

Antifúngicos que actúan sobre la membrana citoplasmática:

La membrana plasmática desempeña una importante función en la división celular y el metabolismo. Las partículas lipídicas llamadas esteroides constituyen aproximadamente el 25 % de la membrana celular pero el contenido difiere entre la célula fúngica y la de los mamíferos. En las células de los mamíferos predomina el colesterol y en las células fúngicas el ergosterol. Polienos, azoles y alilaminas inhiben la síntesis de ergosterol o se fijan al mismo modificando la permeabilidad de la membrana plasmática.²²

a. Polienos: Los polienos alteran la permeabilidad de la membrana lo que permite una pérdida de proteínas, glúcidos y cationes monovalentes y divalentes, causas de la muerte celular.²²

b. La anfotericina B: Es el agente más conocido de esta familia; es extraído de la bacteria *Streptomyces nodosus*. Puede comportarse como fungistático o fungicida dependiendo de la sensibilidad del hongo y de la concentración alcanzada en el lugar de la infección.²²

c. Azoles: Los azoles tienen un anillo con átomos de N libres unidos mediante enlace C-N a otros anillos aromáticos. La naturaleza de estos anillos modifica las propiedades fisicoquímicas, efecto terapéutico, toxicidad etc. En función del número de nitrógenos que posee el anillo se dividen en imidazoles: miconazol y ketoconazol y triazoles: fluconazol, itraconazol, voriconazol. Tienen actividad

fungistática por inhibición de la demetilación del lanosterol de la membrana citoplasmática fúngica al unirse a una de las enzimas del citocromo P-450, ello lleva a la acumulación de metil esteroides y a la reducción de la concentración de ergosterol, un esteroide esencial para la integridad de la membrana citoplasmática fúngica.²²

2.2.12. Nistatina

La nistatina es un macrólido poliénico muy similar a la anfotericina B, muy tóxico para su administración parenteral, por lo que se usa sólo por vía tópica. La nistatina actualmente está disponible en cremas, ungüentos, supositorios y otras formas farmacéuticas para aplicación en la piel y mucosas. No se absorbe en grado significativo a través de la piel, mucosas o el tubo digestivo. Como resultado, la nistatina tiene poca toxicidad, aunque su uso oral a menudo se limita por su sabor desagradable.²³

La nistatina es activa contra casi todas las levaduras del género *Candida* y se utiliza con mayor frecuencia para la supresión de infecciones locales por ese microorganismo. Algunas indicaciones comunes incluyen el algodoncillo bucofaríngeo, candidiasis vaginal e infecciones intertriginosas por *Candida*.²³

La nistatina es activa contra la mayoría de las especies de *Candida* y puede utilizarse para el tratamiento de muguet oral y la candidiasis vaginal.²³

La nistatina se utiliza sólo para la candidosis y se formula en preparados para administración cutánea, vaginal u oral con este fin. Las infecciones de las uñas y las lesiones cutáneas hiperqueratinizadas o encostradas no responden. Se prefieren los polvos para las lesiones húmedas y se aplican dos a tres veces al día. Se utilizan las cremas o los ungüentos dos veces al día. Asimismo, se dispone de combinaciones de nistatina con antibacterianos o corticoesteroides. Las reacciones alérgicas a la nistatina son muy infrecuentes. Aunque son bien tolerados los comprimidos vaginales de nistatina.

La suspensión de nistatina suele ser eficaz en la candidosis oral del hospedero inmunocompetente.²³

2.2.12.1. Actividad antimicótica de la Nistatina

La nistatina no tiene efecto sobre las bacterias ni sobre los protozoarios, pero *in vitro* inhibe muchos hongos incluyendo especies de *Candida*, dermatofitos y organismos productores de micosis profundas en el hombre *in vivo* su actividad está restringida a las superficies donde el medicamento no absorbido puede estar en contacto directo con la levadura o el hongo.²³

El modo de acción implica la unión de la nistatina con la membrana celular en presencia de un esteroles específico. Esto da por resultado cambios drásticos en la permeabilidad de la membrana celular y pérdida de cationes de la célula. Las células que pierden los esteroides de las membranas son resistentes.²³

2.2.12.2 Mecanismo de acción de la Nistatina

Actúa tanto como fungistático como fungicida, en función de la concentración. Se fija a los esteroides de la membrana celular de los hongos, cuya configuración espacial desorganiza, lo que lleva a una alteración de la permeabilidad de la membrana con pérdida de aminoácidos, purinas e iones por parte del hongo, con alteración del metabolismo celular.²³

Al igual que la anfotericina B, nistatina se une a los esteroides en las membranas celulares tanto de hongos como de células humanas. La nistatina es generalmente fungistática in vivo, pero puede tener actividad fungicida a concentraciones altas o contra organismos extremadamente susceptibles. La nistatina tiene mayor afinidad por el ergosterol, el esteroles encontrado en las membranas celulares de los hongos, que para el colesterol, el esteroles encontrado en las membranas celulares humanas. Sin embargo, nistatina es demasiado tóxica para ser usado sistémicamente debido a que la integridad de membrana de unión de ambas células fúngicas y células humanas se deteriora, provocando la pérdida de potasio intracelular y otros contenidos celulares. Dado que las bacterias no contienen esteroides en sus membranas celulares, nistatina es ineficaz en contra de esta clase de organismos. La nistatina es también ineficaz contra protozoos, tricomonas y virus.²³

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Lugar de ejecución: El presente trabajo de investigación fue realizado en los laboratorios de la escuela profesional de Farmacia y Bioquímica de la Facultad de Ciencias de la Salud, en el área de Microbiología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga y en los ambientes del laboratorio de Control de Calidad de la Industria Farmacéutica IQFARMA.

3.2. Población: Hojas de *Aloe vera* L. “sávila” que crecen en el distrito de Huamanguilla, provincia de Huanta de la región Ayacucho. Ubicado a 2750 m.s.n.m.

3.3. Muestra: se utilizó 5 Kg de las hojas de *Aloe vera* L. “sávila” recolectada en el distrito de Huamanguilla, provincia de Huanta de la región Ayacucho.

3.4. Microorganismo de ensayo: Cepas de *Candida albicans* ATCC 10231 proporcionadas por el área de Microbiología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.

3.5. Procedimiento metodológico

3.5.1. Recolección de la muestra

Se recolectaron las hojas de *Aloe vera* L. “sávila” en el distrito de Huamanguilla, de la provincia de Huanta. Se eligieron las hojas sanas y maduras de *Aloe vera* L. “sávila”, mediante un muestreo por conveniencia, para luego lavarlos con la finalidad de eliminar posibles contaminantes, una parte de la planta con hojas y flor fueron utilizadas para la identificación taxonómica en el *Herbarium Huamangensis* de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.

3.5.2. Obtención del acíbar:

Las muestras recolectadas fueron transportadas a un lugar adecuado para la extracción, en las hojas de *Aloe vera* se realizaron cortes transversales, dejando una distancia de una pulgada entre cada incisión, se recolecto el acíbar que

rezuma de cada incisión, se secó a temperatura ambiente (24°C) y se almacenó en un frasco estéril a temperatura ambiente.

3.5.3. Identificación de los metabolitos secundarios que posee el acíbar de las hojas de *Aloe vera* L.

Se realizó una marcha fitoquímica cualitativa del acíbar de las hojas de sávila, identificando diferentes componentes químicos, la reacción de identificación se realizó siguiendo la metodología propuesta por Miranda M y Cuellar A del instituto de Farmacia y alimentos de la Universidad de la Habana Cuba.²⁴

La identificación cualitativa se determinó mediante ensayos de coloración y precipitación.

3.5.4. Determinación de las constantes organolépticas y fisicoquímicas

a. Análisis organoléptico

Olor: Se tomó una cantidad suficiente de muestra con una tira de papel secante, para luego percibir y determinar el tipo de olor.

Color: Se colocó una cantidad suficiente de muestra en un tubo de ensayo, se observó y determinó el tipo de color de acuerdo a la escala crómica.

Sabor: Se colocó cantidad suficiente de muestra en una luna de reloj para luego hacer contacto con la lengua y determinar el tipo de sabor.

b. Solubilidad

La solubilidad en agua se determinó vertiendo en un tubo de ensayo 1mL de agua destilada luego añadiendo 100mg de muestra, se agitó con fuerza y se observó, de manera similar se determinó la solubilidad en alcohol etílico 96°, metanol, cloroformo, tolueno, dimetilsulfoxido, hexano.

c. Determinación del pH

Para determinar el PH se utilizó un potenciómetro calibrado y verificado del Instituto Quimioterápico, siguiendo el procedimiento descrito en el manual de uso a 25°C, se utilizó el acíbar antes de secarlo.

d. Residuo de incineración

Se pesó no menos de 1g de acíbar en un crisol de porcelana previamente incinerada por 30 minutos a 600°C, enfriada y tarada, se calentó la muestra en una cocinilla se le agregó ácido sulfúrico hasta carbonizar, posteriormente se colocó el crisol que contiene la muestra en una mufla a 600°C a peso constante. Dejamos enfriar en un desecador y se procedió a pesar, repitiéndose el proceso hasta que dos pesadas sucesivas no difieran en más de 0,5mg. (USP 39)

$$\% \text{ de ceniza} = \frac{W2 - W0}{W1 - W0} \times 100$$

Dónde:

W0= masa del crisol vacío

W1= masa del crisol más la muestra

W2= masa del crisol con la ceniza.

3.5.5. Evaluación de la actividad antimicótica del acíbar de las hojas de *Aloe vera* L. “sávilas”

Según la metodología de Lozina *et al.*²⁵ para la determinación de los halos de inhibición: Palomino y Uribe.²⁶ Para determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) y la concentración mínima fungicida (CMF).

Método de Difusión en Agar

Esta prueba se basa en la inhibición del crecimiento fúngico, mediante la difusión de las sustancias activas en un medio sólido y se evidencia por la formación de halos.²⁵

Hongo utilizado: *Candida albicans* ATCC 10231.

Preparación del inoculo de *Candida albicans* ATCC 10231

Se procedió a seleccionar las colonias del agar de cultivo, se tocó la colonia *Candida albicans* ATCC 10231 por arriba con una asa y el crecimiento se transfirió a un tubo con 4 a 5 mL de caldo nutritivo, se incubó a 37 °C por 24 horas. La turbidez del caldo se ajustó con el caldo nutritivo obteniéndose así una turbidez ópticamente similar al estándar de 0,5 de la escala de Mc Farland. Se realizó este paso visualmente, teniendo en cuenta la luz adecuada, comparando así el inoculo con el estándar de 0,5 de la escala de Mc Farland contra un fondo blanco.

Determinación de la actividad antifúngica

Para determinar la actividad antimicótica del acíbar de las hojas de *Aloe vera* se empleó la técnica del disco en agar.

- Se preparó agar Mueller Hinton el cual fue esterilizado y enfriado para luego añadir 20mL del medio en cada placa Petri previamente esterilizado.
- Una vez solidificado el medio, se procedió a sembrar las cepas de *Candida albicans* ATCC 10231, se utilizó el método de estrías utilizando un hisopo estéril y dispersando la cepa por toda la placa y luego se dejó secar las placas por treinta minutos.

- Se procedió a colocar los discos de papel Wathman secante de 6mm de diámetro y 0,6 de grosor, embebidos en el control negativo, en el control positivo y en las diferentes concentraciones de las muestras, las placas fueron incubadas a 37°C durante 24 horas.

Lectura e interpretación de los resultados

Se observaron las zonas claras de inhibición del crecimiento (halos) y se midieron los diámetros en mm. Las concentraciones con actividad significativa fueron sometidas a la prueba de microdilución en placa para determinar su Concentración Mínima Inhibitoria (CMI).

3.5.6. Determinación de las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI)

CMI es la concentración más baja de un antimicrobiano que inhibe el crecimiento de un microorganismo después de la incubación. La concentración mínima inhibitoria es importante en el diagnóstico de laboratorio para confirmar la resistencia de microorganismos a un agente antimicrobiano y además para monitorizar la actividad de los nuevos agentes antimicrobianos.²⁶

El cultivo de *Candida albicans* ATCC 10231 fue ajustado al estándar de 0,5 de escala de Mcfarland. Para hallar la CMI se prepararon 15 tubos previamente esterilizados y rotulados del número 1 al 15. A continuación se detalla el procedimiento:

- A partir del tubo N° 1 hasta el tubo N° 15 se agregó 1 mL de caldo nutritivo en este caso es la soja tripticasa.
- Posteriormente se agregó 1mL de la concentración con mejor efecto antimicótico del acíbar de *Aloe vera* “sábila” al tubo N° 1, a partir del cual se traspasó 1 mL al tubo N° 2 y así sucesivamente hasta el tubo N° 14 se extrajo 1 mL y se descartó. El Tubo N° 15 no recibió el acíbar siendo este el control.
- Luego se agregó 1mL del inóculo de *Candida albicans* ATCC 10231 a todos los tubos y se llevó a incubación a 37 °C por 24 horas
- A las 24 horas se observó y detecto el tubo N° 9 donde se observó la presencia de turbidez y a este tubo se le asignó como la CMI.
- Ya que concentración mínima inhibitoria es donde hay presencia de microorganismos pero que su crecimiento es inhibido por un agente fungistático.
- Este tubo fue cultivado en agar Mueller Hinton y se incubó a 37°C por 24 horas.

Tabla 3. Diluciones decrecientes del acíbar de los hojas de *Aloe vera* L. "sávila"; Ayacucho 2017.

N° de tubos	Concentración de acíbar de <i>Aloe vera</i> L. "sávila" (%)
1	70.0000
2	35.0000
3	17.5000
4	8.7500
5	4.3750
6	2.1875
7	1.0938
8	0.5469
9	0.2734
10	0.1367
11	0.0684
12	0.0342
13	0.0171
14	0.0086
15	control

Fuente: Elaboración propia

3.5.7. Determinación de las concentraciones mínimas fungicidas (CMF)

Se define como la concentración más baja del antimicótico que produce la muerte de 99,9% del microorganismo probado y solo permite la supervivencia del 0,1% de dicho microorganismo en cultivo, este es el criterio que se usa para bacterias y hongos.²⁶

Para determinar la concentración mínima fungicida (CMF) se procedió a partir de la concentración mínima inhibitoria (CMI), realizándose de la siguiente manera:

- Luego de observar la turbidez a simple vista, se procedió a sembrar con un hisopo estéril el tubo anterior de la CMI que no presenta turbidez en agar Mueller Hinton, considerándose la concentración de este tubo como la CMF.
- Posteriormente se incubó a 37°C por 24 horas.
- Lectura: se determinó la CMF verificando si hubo o no crecimiento del hongo en las placas sembradas.

3.6. DISEÑO EXPERIMENTAL

- G_e X O_e
- G_b - O_b
- G_c C O_c

Dónde:

G_e : Grupo experimental (acíbar *Aloe vera* L. “sávila”)

G_b : Grupo blanco

G_c : Grupo control

X : Aplicación de acíbar de *Aloe vera* L. “sávila”

C : Aplicación de Nistatina.

- : Ausencia de estímulo (blanco)

O : Crecimiento fungicida (halos de inhibición).

Para el presente trabajo, se formó cinco grupos y cada grupo de seis repeticiones con *Candida albicans* ATCC 10231.

Grupo I : Control positivo tratado con nistatina

Grupo II : Acíbar de *Aloe vera* L. al 10 % de concentración

Grupo III : Acíbar de *Aloe vera* L. al 30 % de concentración

Grupo IV : Acíbar de *Aloe vera* L. al 50 % de concentración

Grupo V : Acíbar de *Aloe vera* L. al 70 % de concentración

Para determinar el efecto antimicótico se procedió a medir el diámetro de los halos de inhibición de las diferentes concentraciones de la muestra y del control positivo, los que nos permitió determinar la concentración ideal que muestra una mayor eficacia antimicótica en relación a la Nistatina tomado como patrón.

Para el cálculo del porcentaje de inhibición se usó la siguiente fórmula

$$\% \text{ de inhibición} = \frac{\text{Diámetro del halo de inhibición de la muestra (mm)}}{\text{Diámetro del halo del control (mm)}} \times 100$$

3.7. Análisis de datos

Los resultados de los halos de inhibición se presentaron en forma de medias y desviación estándar para cada grupo. La diferencia entre la media se contrastó con el análisis de varianza al 95% de confianza. La comparación de los halos de inhibición con el estándar de referencia se realizó con prueba de Dunnett. La influencia de la concentración en los halos de inhibición se evaluó con la prueba estadística de Tukey, Se usó del software estadístico SPSS, versión 21,0.

IV. RESULTADOS

Tabla 4. Características organolépticas y fisicoquímicas del acíbar de las hojas de *Aloe vera* L. “sávila”; Ayacucho 2017.

Parámetros	Ensayos	Resultados
Organoléptico	Color	Amarillo
	Olor	Característico
	Sabor	Amargo
	Aspecto	Líquido viscoso
solubilidad	Agua	Poco soluble
	Etanol	Soluble
	Metanol	Soluble
	Cloroformo	Soluble
	Hexano	Poco soluble
	Tolueno	Poco soluble
	Dimetilsulfoxido	Soluble
PH	PH-metro	4,70
Ceniza	Gravimétrico	0,017%

Tabla 5. Metabolitos secundarios presentes en el acíbar de las hojas de *Aloe vera* L. "sávila"; Ayacucho 2017.

Metabolitos secundarios	Ensayos	Resultados	Observaciones
Saponinas	Espuma	+++	Hay presencia de espuma
Fenoles	Nitrato de plata	+++	Forma precipitado
Flavonoides y taninos	Cloruro férrico	+++	Coloración negro azulado
Quinonas	Permanganato de potasio	+++	Coloración roja
Quinonas	Hidróxido de potasio	+++	Coloración roja

Leyenda:

(-): Ausente (+): Escasa (++) : Buena (+++) : Excelente

Tabla 6. Concentración mínima inhibitoria (CMI) y concentración mínima fungicida (CMF) del acíbar de las hojas de *Aloe vera* L. "sávila"; Ayacucho 2017.

N° de tubos	Concentración de acíbar de <i>Aloe vera</i> L. "sávila" (%)	Turbidez	
1	70,0000	No	S
2	35,0000	No	S
3	17,5000	No	S
4	8,7500	No	S
5	4,3750	No	S
6	2,1875	No	S
7	1,0938	No	S
8	0,5469	No	S CMF
9	0,2734	Si	R CMI
10	0,1367	Si	R
11	0,0684	Si	R
12	0,0342	Si	R
13	0,0171	Si	R
14	0,0086	Si	R
15	control	Si	R

Leyenda:

Si: presencia de turbidez

No: Ausencia de turbidez

S: sensible

R: Resistente

CMI: Concentración mínima inhibitoria

CMF: Concentración mínima fungicida

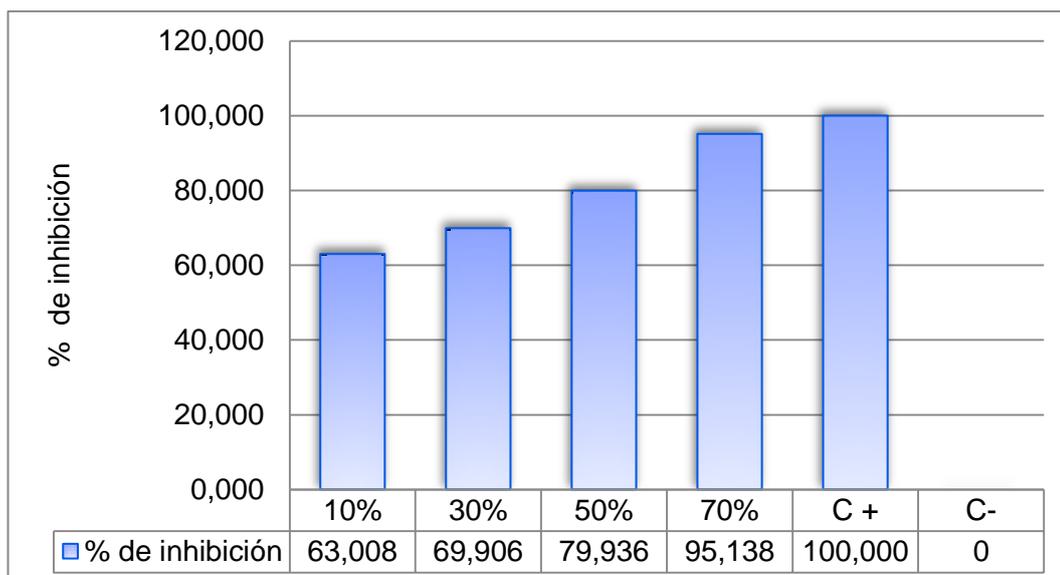


Figura 1. Porcentaje de inhibición del acíbar de las hojas de *Aloe vera* L. “sávila” en comparación con la Nistatina (control positivo); Ayacucho 2017.

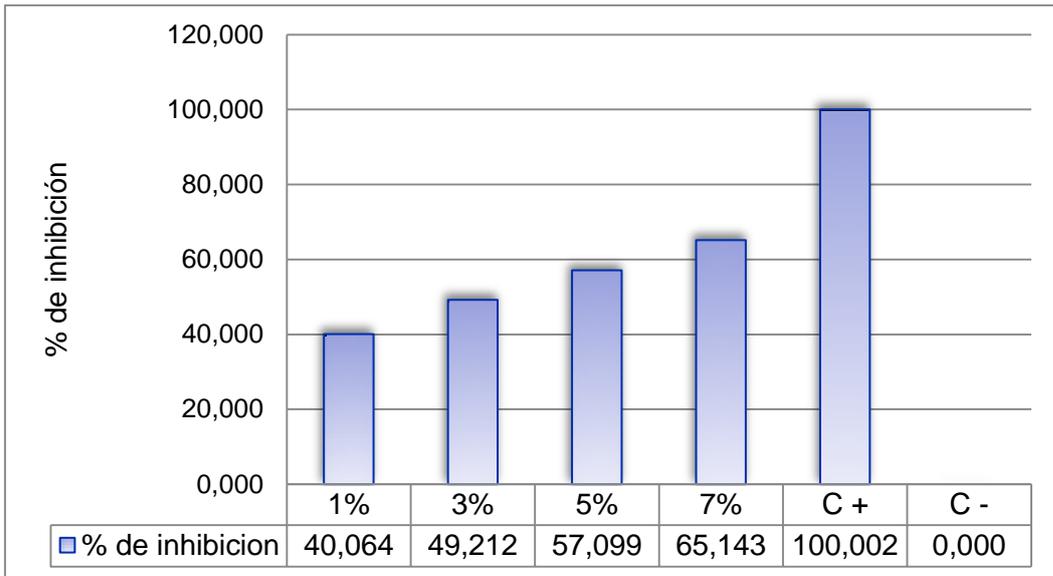


Figura 2. Porcentaje de inhibición del azúcar de las hojas de *Aloe vera* L. “sávila” en comparación con la Nistatina (control positivo); Ayacucho 2017.

V. DISCUSIÓN

En la presente investigación el tamisaje fitoquímico del acíbar de las hojas de *Aloe vera* L. en la tabla 5, reveló la presencia de algunos metabolitos secundarios en los cuales incluye saponinas, fenoles, flavonoides, taninos, quinonas, dando negativo para alcaloides, mientras que Tamilarasi L. et al.²⁷ indica que encontró presencia de alcaloides en mínimas concentraciones además reportó en grandes proporciones saponinas, glucósidos, flavonoides y taninos. Ramírez G.²⁸ indica que la composición del acíbar de *Aloe vera* varía de acuerdo a la procedencia y a la época en la cual se ha recolectada, y en promedio contiene 2% de cenizas, 40% a 80% de resinas (éster de ácido paracumarínico y aloeresinatol) 20% de aloína A y B y pequeñas cantidades de aloinósidos, aloenina, trazas de Alcaloides, abundante aloerresinas, los cuales coinciden con la presente investigación ya que el acíbar de las hojas de *Aloe vera* L. al ser sometido a la prueba para antraquinonas da positivo y esta es respaldada con identificación por el método espectroscópico (anexo 16) , equipo ultravioleta –visible en el cual encontramos la máxima absorción a 296nm de longitud de onda con una absorbancia de 4,920 ya que la bibliografía indica que las antraquinonas presentan máximos de absorción entre 240 y 260nm (bencenoide), a 260-300nm (quinónico).²⁹

La investigación emprendida utiliza como organismo de prueba *Candida albicans*, un patógeno fúngico oportunista para evaluar la actividad del acíbar de *Aloe vera* L. Se han obtenido resultados alentadores entre las concentraciones 10%; 30%; 50% y 70% usando como diluyente etanol. Entre los resultados que se describen son: halos de inhibición de 10% es 13,400mm, de 30% es 14,867mm, de 50% es 17,000mm indicando que en estas tres concentraciones existe sensibilidad intermedia, y de 70% es 20,233 mm generando sensibilidad, dado que si los halos de inhibición se encuentran dentro del rango de <10mm es resistente, 10-17mm sensibilidad intermedia, >17mm es sensible.

La concentración de 70% presenta un halo de inhibición cercano al de la nistatina, este efecto antimicótico del *Aloe vera* ha podido ser avalado por otros investigadores como, Cayo C.⁷ determinó su eficacia como agentes antimicóticos en el tratamiento de las patologías vaginales, realizando un estudio comparativo con un producto control: el Gynocanesten. El grupo experimental evaluado estuvo constituido por 27 alumnas del IV ciclo de la E.A.P. de Obstetricia De acuerdo con los resultados obtenidos de manera experimental, se evaluó durante 3 fechas la evolución de la infección vaginal con respecto al tratamiento natural aplicado, concluyendo que los productos empleados, el *Aloe vera* y la sangre de grado, fueron tan eficaces como la aplicación del producto control Gynocanesten®, pero en otra investigación realizada por Carrillo M.⁴ indica que hubo ligera actividad de un extracto etanólico al 50% y mientras en otras concentraciones los resultados fueron nulos, en esta investigación se trabajó con el gel de aloe vera y nuestro trabajo es con el acíbar de aloe vera, además Saavedra F evaluó la actividad antibacteriana y fungicida de los macerados acuosos y alcohólicos de las hojas de *Aloe vera* L, que contenían derivados antraquinónicos.⁶ Con dichos macerados se prepararon soluciones de sulfato cúprico pentahidratado 1,5%, cloruro férrico 1%, nitrato de plata 1%, y Bismuto nitrogenado 1,5%, que se guardaron en frascos de vidrio color ámbar, herméticamente cerrados por 12 meses, bajo refrigeración; un grupo similar se conservó a 25°C. Se determinó la actividad de estos preparados, usando el método excavación placa de la USP XXX frente a cepas de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Aspergillus niger*. Las soluciones acuosas de *Aloe vera* L. presentaron actividad antibacteriana en orden decreciente Cu > Ag > Fe, y las soluciones alcohólicas Ag > Cu > Fe. Solamente las soluciones acuosas de sulfato de cobre presentaron actividad fungicida. Los preparados conservados bajo refrigeración, presentaron mayor actividad antimicrobiana y fungicida que los preparados equivalentes conservados a 25°C. Mientras que en la presente investigación al realizar un piloto de tres grupos con tres repeticiones por cada grupo no se encontró halos de inhibición con soluciones acuosas del acíbar de *Aloe vera*, diferenciándose de los resultados del autor antes mencionado, esta diferencia probablemente se deba a que ellos trabajaron haciendo sinergia con sulfato de cobre y este compuesto químico ayude a *Aloe vera* a manifestar su efecto antimicótico en medio acuoso.

además Sitara U, et al³⁰ al utilizar el método de difusión de placas de agar para analizar la actividad antifúngica de *Aloe vera* gel contra cinco hongos patógenos vegetales a saber, *Aspergillus niger*, *A. flavus*, *Alternaria alternata*, *Drechlera hawaiiensis* y *Penicillium digitatum*, el gel de *Aloe vera* disuelta en acetona con patata derretida en dextrosa para proporcionar 0,15%, 0,25% y 0,35% de concentración, se hizo tres repeticiones de cada tratamiento, los resultados que obtuvieron fue que la concentración es directamente proporcional a la reducción del crecimiento de todos los hongos en estudio, parecida a nuestros resultados en la que la concentración es directamente proporcional a la capacidad antimicótica. Por otro lado Hardeep k, et al.³¹ estudió la actividad antifúngica de tres plantas en las cuales incluye a *Aloe vera* contra el hongo patógeno humano, *Candida albicans*. La prueba de susceptibilidad a los extractos se realizó utilizando tres metodologías diferentes, a saber, la determinación toxicológica del punto final mediante la concentración mínima inhibitoria (MIC), el ensayo puntual y el ensayo de difusión en disco de filtro, Las hojas secas de *Aloe vera*, se molieron en polvo el material molido se extrajo sucesivamente utilizando etanol como disolvente a las concentraciones de 1g/4 mL o 1g/3 mL. Los extractos se recogieron y se almacenaron en el frigorífico a 4°C. En este estudio, las tres plantas han mostrado una actividad antifúngica prometedora. Además, hubo una inhibición completa del crecimiento de *Candida albicans*, los autores aclaran que la temperatura de extracción es importante ya que en otras pruebas realizadas por los investigadores el método de extracción se realizó a 90°C, mientras que la misma se realizó a temperatura ambiente (24 °C) dado que los protocolos seguidos en ambos son casi similares, se ha podido descifrar que el componente activo se pierde (o se degrada) en el extracto etanólico si la extracción se hace a temperatura más alta. El efecto inhibitor del etanol disolvente se verificó usando solo etanol y no mostró ningún efecto inhibitor a la concentración indicada. En la presente investigación la extracción del acíbar consistió en hacer incisiones en la hoja y el acíbar escurre a un recipiente, este fue secado a temperatura ambiente ya que en un primer piloto para secar el acíbar se usó una estufa a 60°C durante 24 horas, en el cual el efecto antimicótico fue mínimo, sumándonos así a las dilucidaciones de que a temperaturas elevadas el componente activo del *Aloe vera* L.se pierde o se degrada. Por otro lado Ian E.¹¹ trabajó en extractos metanólicos de gel de hoja interna de *Aloe barbadensis miller* los cuales fueron fraccionados por RP-HPLC y la Las

fracciones resultantes se ensayaron respecto a la actividad inhibidora contra un panel de bacterias y hongos. Cinco fracciones fueron identificados teniendo actividad antimicrobiana. La fracción metanólica tenía la actividad antibacteriana más amplia, siendo capaz de inhibir el crecimiento tanto de bacterias Gram-positivas como de Gram-negativas, así como de inhibir de una cepa resistente a la nistatina del hongo *Aspergillus niger*, La fracción metanólica tenía espectros UV similares Como emodina de aloe y fue cromatográficamente idéntica al compuesto puro, mientras el jugo de *Aloe vera* mostró actividad antibacteriana contra sólo el Gramnegativo bacterias *A. hydrophilia* y *E. coli*. No mostró ninguna actividad inhibitoria contra ninguna de las Hongos o levaduras, los autores indican que el metanol podría ser capaz de reducir los componentes que bloquean o contrarrestan la actividad inhibitoria contra alguna bacterias debido a que el extracto metanólico no tuvo efecto contra *K. pneumoniae* y *A. faecalis* solo el jugo de *Aloe vera* fue capaz de inhibir el crecimiento de estos, a esto se suma la investigación de Chinedu M, et al.³² al estudiar el crudo de gel de *Aloe Vera* con el objetivo de determinar la actividad microbiana, el mejor disolvente a utilizar para la extracción y el organismo que es más susceptible al extracto en bruto de gel de *Aloe vera*. Etanol, metanol y se utilizaron extractos acuosos (calientes) como disolvente para la extracción. Aunque extracto acuoso tuvo el mayor rendimiento (19,0 g) después de la extracción en comparación con el etanol (18,40 g) y metanol (18,0 g), se consideró todavía el etanol como el mejor disolvente para extracción. La susceptibilidad de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans* a los extractos brutos de gel de *Aloe vera* se determinó mediante el método de difusión en agar, se usó como control positivo Gentamicina, el extracto de etanol inhibió el crecimiento de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Candida Albicans* con zonas de inhibición de 6; 5 y 4 mm, respectivamente, mientras que la capa acuosa tenía zonas de inhibición de 6; 4 y 3 mm respectivamente, el extracto de metanol inhibió el crecimiento de *Escherichia coli* (3 mm) solamente. El extracto de etanol dio una Mejor concentración inhibitoria mínima (MIC) (0,125, 0,125 y 0,40 mg / ml) que Extracto acuoso (0,25, 0,25 y 0,25 mg / ml) y extracto de metanol (0,50, 0,00 y 0,00 mg / ml) en *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans* respectivamente. El estudio reveló que al etanol y extractos acuosos de gel de aloe vera fueron susceptibles los tres agentes patógenos y también prestaba más peso a la aceptabilidad de estos extractos brutos con fines terapéuticos,

comparándose esto con nuestros resultados la concentración mínima inhibitoria en solución etanólica del acíbar es 0.2734mg/mL, esto difiere de la investigación antes mencionada y la diferencia se puede deber a que ellos usaron gel de *Aloe vera* y realizaron un proceso de extracción, mientras nosotros usamos el acíbar de las hojas de *Aloe vera* L. y el etanol fue usado como diluyente, elegimos como mejor solvente al etanol ya que en diferentes pilotos probados con metanol, agua y dimetilsulfoxido se han visto nulas la inhibición del acíbar de las hojas de *Aloe vera* L.

Los resultados de la presente investigación tienen una distribución simétrica según la prueba de normalidad (anexo 4), y según el análisis estadístico de varianza ANOVA (anexo 5) existen diferencias significativas en las concentraciones de 10%; 30%; 50%; 70% de la muestra y el estándar, indicándonos así que el efecto antimicótico del acíbar de las hojas de *Aloe vera* es directamente proporcional a la concentración.

Teniendo evidencia científica vigente sobre las propiedades antimicóticas del *Aloe vera*, y en la presente investigación se demuestra la eficacia contra la *Candida albicans*, se pueden aprovechar para tratar enfermedades con infecciones micóticas.

VI. CONCLUSIONES

1. El acíbar de las hojas de *Aloe vera* L. posee actividad antimicótica sobre una cepa de *Candida albicans* ATCC 10231.
2. El acíbar de las hojas de *Aloe vera* L. "sábila" es de color amarillo, olor característico, sabor amargo, Aspecto líquido viscoso, es poco soluble en agua, hexano y tolueno, es soluble en etanol, metanol, cloroformo y dimetilsulfoxido, el pH es 4,70 y ceniza 0,017%
3. Las diferentes concentraciones (10%; 30%, 50 y 70%) del acíbar de las hojas de *Aloe vera* L. "sábila" poseen actividad antimicótica sobre cepas de *Candida albicans* ATCC 10231, siendo 10%; 30% y 50% con sensibilidad intermedia y 70% presenta sensibilidad.
4. La concentración mínima inhibitoria (CMI) del acíbar de las hojas de *Aloe vera* L. "sábila" es 0,2734 % frente a *Candida albicans* ATCC 10231.
5. La concentración mínima fungicida (CMF) del acíbar de las hojas de *Aloe vera* L. "sábila" es 0,5469 % frente a *Candida albicans* ATCC 10231.

VII. RECOMENDACIONES

1. Continuar con la investigación sobre el estudio del acíbar de las hojas de Aloe vera, con la finalidad de determinar si tiene actividad en otras especies de hongos y bacterias patógenas.
2. Aislar los compuestos activos que le confieren la actividad antimicótica al acíbar de las hojas de *Aloe vera*, para un mejor estudio y elaborar una forma farmacéutica.
3. Estudiar otras partes de la hoja de *Aloe Vera* con la finalidad de determinar si tiene actividad contra hongos y bacterias patógenas.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Biasoli M. candidiasis, [boletín informativo] centro de referencia de micología. 2013. Pág: 3. Disponible en:
<http://www.fbioyf.unr.edu.ar/evirtual/pluginfile.php/4130/course/section/1519/1%20Clase-Estructura%20Fungica-2014.pdf>
2. Bial – Arístegui, *Candida albicans*, Rev Iberoam Micol 2002. Disponible en:
<http://hongos-alergenicicos.reviberoammicol.com/files/025.PDF>
3. Ruiz J. Actividad antifúngica in vitro y concentración mínima inhibitoria mediante microdilución de ocho plantas medicinales [tesis para optar el grado académico de magíster]. Universidad Nacional Mayor De San Marcos Facultad De Farmacia Y Bioquímica Unidad De Post-Grado Lima, Perú 2013. Disponible en:
http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/cybertesis/2590/1/ruiz_qj.pdf
4. Carrillo M. *Aloe vera* agente antimicrobiano. Taller de investigación II. Yucatán. Cub Med. [revista on line] 2012; 7(1): 124 – 127. Disponible en: 2011. <http://www.itsyucatan.edu.mx/archivos/usuarios/5/archivo1000.pdf>
5. Sánchez V y Santa J. Estudio de antraquinonas presentes en extracto de mucílago y hojas de Aloe Vera de plantas cultivadas en la región cafetera. [Trabajo de grado para optar título de tecnólogo en química]. Universidad tecnológica de Pereira, facultad de tecnología. Pereira. 2009. Disponible en:
<http://repositorio.utp.edu.co/dspace/bitstream/11059/1818/1/5428S211.pdf>
6. Saavedra F, López B, Yrei V, Gallardo T, Ale N, Gordillo G. Actividad antibacteriana y fungicida de las antraquinonas de *Aloe vera* L. combinadas con cationes cobre, hierro, plata y bismuto. Ciencia e Investigación. [revista on line] 2012. 15(1): 30-35. ISSN 1609-9044. Disponible en:
<http://revistas.concytec.gob.pe/pdf/cei/v15n1/a06v15n1.pdf>
7. Cayo C, Ecurra C, Robles G. Eficacia antimicótica del *Aloe Vera* y la sangre de grado en comparación al Gynocanesten. [tesis para optar el título de Magister] Escuela profesional de Obstetricia de la Facultad de Medicina Humana y Ciencias de la Salud de la Universidad Alas Peruanas. 2011.
8. Quiroga J, Pinto J, Zabalaga S, Escobar M, Zurita A. Formulación de un producto galénico para el tratamiento de quemaduras con extractos de: *Aloe Vera*, *Schinopsis Haenkeana*, *Propolis* Y *Myrciaria Dubia*. Universidad Mayor de San Simón, Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas, programa de fármacos alimentos y cosméticos. Bolivia. 2005.
9. Fernández B. Sensibilidad antifúngica de los Dermatofitos. [Tesis Doctoral]. Universidad Rovira y Virgili, Facultad de Medicina y Ciencias de la Salud. Departamento de Ciencias Médicas Básicas. Unidad de Microbiología. España 2005. Disponible en:
<http://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/8718/TesisdoctoralporBelkysFernandeztorres.pdf;jsessionid=433AB0F00B7B6000ADE512ECC2DFEFEB2.tdx2?sequence=1>
10. Aditi G, Bhandari B, Nishant R. Antimicrobial Activity of Medicinal plants *Azadirachta Indica* A. Juss, *Allium Cepa* L. and *Aloe Vera* L. International Journal of PharmTech Research. [revista on line] 2011; 3(2):1059-1065. ISSN: 0974-4304. Disponible en:
<http://www.isca.in/IJBS/Archive/v1i6/14.ISCA-IRJBS-2012-150.pdf>
11. Ian E. Antimicrobial Activity of *Aloe Barbadensis* Miller Leaf Gel Components. Journal of Microbiology. [revista on line] 2008; 4(2). 424 – 436. Disponible en: <http://www98.griffith.edu.au/dspace/bitstream/hand>
12. Rivero R, Rodríguez E, Menéndez R, Fernandez J, Barrio G y González M, Obtención y caracterización preliminar de un extracto de *Aloe Vera* L. con

- actividad antiviral. Rev Cubana plant med. [revista on line] 2002; 7(1): 32-38.
13. Lescano J. Recursos fitogenéticos altoandinos y bancos de germoplasma. en: Curso: Cultivos altoandinos. Potosí, Bolivia. 17 - 21 de abril de 1989. pp 1-18.
 14. Cornejo V. Las plantas y sus utilidades. Ayacucho – Perú : Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga; 1983
 15. Sharma A y Gautam S. An overview on medicinal properties of *Aloe vera*: antibacterial & antifungal aspects. International journal of pharma and bio sciences. [revista on line] 2013; 4(3): 694 – 705. ISSN: 0975-6299.
 16. Moghaddasi S, Kumar S. *Aloe vera* their chemicals composition and applications. A review International Journal of Biological & Medical Research. [revista on line] 2011; 2(1): 466 - 471. ISSN: 0976:6685.
 17. Mural R. El manual de microbiología clínica. 6ª edición. Washington: La biblioteca de congreso. Editor Ellen J; 1995
 18. Pumarola A. Microbiología y Parasitología médica. 2ª edición. España: MASSON; 1995.
 19. Brooks G, Butel J, Morse S. Microbiología médica de Jawetz, Melnick y Adelberg. 17ª edición. Mexico: El manual moderno; 2002.
 20. Murray P, Rosenthal K, Pfaller M. Microbiología médica. 6ª edición. España: Elsevier; 2009.
 21. Allevato M, Negroni R, Galimbert R, antifúngicos Ayer, hoy y mañana, hospital de clínicas “José de san Martín”, Buenos aires. Act Therap Dermatol. [revista on line] 2007. 30(8): 123- 125.
 22. Katzung B, Farmacología básica y clínica. Tomo II. 10ª edición. España: Elsevier, 2009.
 23. Cotillo P. Farmacología. Mecanismo de Acción Glasario. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho –Perú. 1998
 24. Miranda M, Cuéllar A. Farmacognosia y Productos Naturales. Ed. Félix Varela. Ciudad de La Habana, 2001: 159-283
 25. Lozina L, Boehringer S, Acosta O. Extrapolación en una Forma posológica de valores obtenidos *in vitro* sobre actividad antifúngica del propóleo. Universidad Nacional del Nordeste Comunicaciones Científicas y tecnológicas. [revista en internet]. 2005
 26. Palomino M, Uribe C. Determinacion de la actividad antimicrobiana in vitro de los extractos etanólicos e hidroalcohólico de las semillas de *Carica papaya* L. “papaya”. [Tesis para optar título profesional]. Universidad Autonoma Chapingo. Mexico. 2012.
 27. Tamilarasi L, Ponnulakshmi R y Ezhilarasi S. comparative study on the antifungal activity of *aloe vera* leaf and gel in different extracts, Post Graduate and Research Department of Zoology, Ethiraj College for Women, Chennai, International Journal of Pharma and Bio Sciences. [revisa on line] 2014; 5 (2) : 895-901.
 28. Ramirez G. Fitoterapia revisiones monográficas, Aloe vera, Natura m1 T1 [revista on line] 2003; 21 (1): 26-31.
 29. UNMSM, Identificacion de quinonas, biblioteca virtual, disponible en: http://sisbib.unmsm.edu.pe/BibVirtualData/Libros/Quimica/pigmentos/archivos%20PDF/identificacion_quinonas.pdf.
 30. Sitara U, Hassan N y naseem J. antifungal activity of Aloe vera gel against plant pathogenic fungi, Pakistan Agricultural Research Council, Pak. J. Bot. [revista on line] 2011; 43(4): 2231-2233.
 31. Hardeep K, Goyal R, Bhattacharya A, Gupta R. Antifungal activity of Phyto-extracts of Piper longum, Aloe vera, and Withania somnifera against human fungal opportunistic pathogen *Candida albicans*, Universidad de Delhi, India.

- DU Journal of Undergraduate Research and Innovation. [revista on line] 2011; 7(1): 107-115.
32. Chinedu M, Emmanuel O y Godson O, Antimicrobial effects of Aloe vera on some human pathogens, Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci [revista on line] 2014; 3(3): 1022-1028. ISSN: 2319-7706.

ANEXOS

Anexo 1

Certificado de identificación sistemática de *Aloe vera* L. "sávila"



**EL JEFE DEL HERBARIUM HUAMANGENSIS DE LA FACULTAD
DE CIENCIAS BIOLÓGICAS DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE
"SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA"**

C E R T I F I C A

Que, la Bach. En Farmacia y Bioquímica **Srta. Betza, ROJAS GARCÍA**, ha solicitado la identificación de una muestra vegetal para trabajo de tesis. Dicha muestra ha sido estudiada y determinada según el Sistema de Clasificación de Cronquist. A. 1988. y es como sigue:

DIVISIÓN	:	MAGNOLIOPHYTA
CLASE	:	LILIOPSIDA
SUB CLASE	:	LILIIDAE
ORDEN	:	LILIALES
FAMILIA	:	LILIACEAE
GENERO	:	<i>Aloe</i>
ESPECIE	:	<i>Aloe vera</i> L.
N.V.	:	"sávila"

Se expide la certificación correspondiente a solicitud de la interesada para los fines que estime conveniente.

Ayacucho, 28 de Setiembre del 2016

UNIVERSIDAD NACIONAL DE
SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
HERBARIUM HUAMANGENSIS

Dña. Lavinia Aucastillo Medina
JEFE

Anexo 2

Certificado de cepa de *Candida albicans* ATCC 10231.



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
ÁREA ACADÉMICA DE MICROBIOLOGÍA

El jefe del Laboratorio de Bacteriología, del Área Académica de Microbiología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga:

CERTIFICA:

Que se ha proporcionado a la Srta. Betza Rojas García, la cepa de *Candida albicans* ATCC 10231 de la Escuela de Formación Profesional de Farmacia y Bioquímica a fin de que pueda desarrollar la tesis titulada: "Actividad antimicótica del acíbar de las hojas de *Aloe vera* L. "sávila" frente a *Candida albicans* ATCC 10231. Ayacucho 2016"

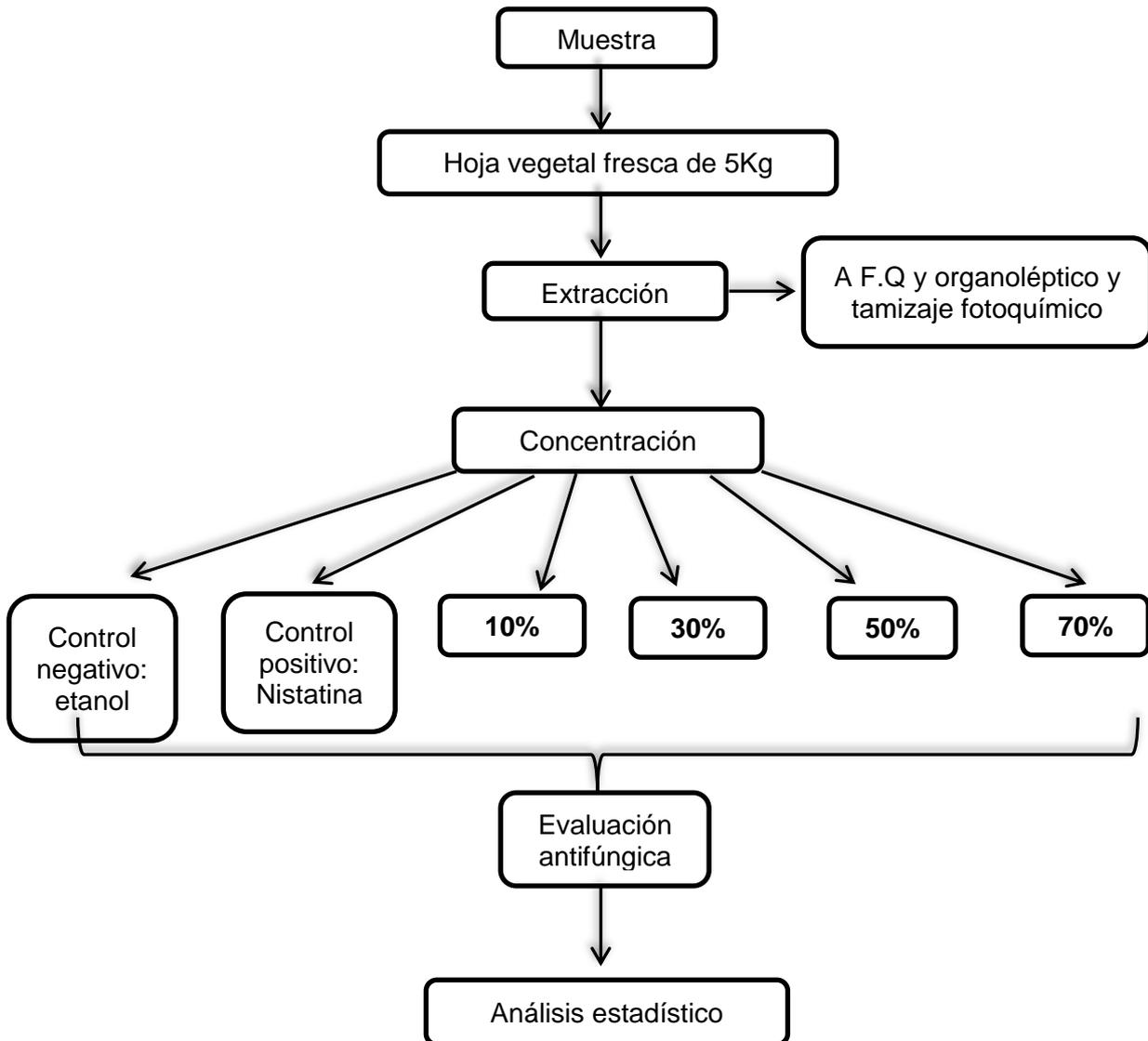
Se expide la presente certificación a solicitud de la interesada por los fines que crea por conveniente.

Ayacucho, 25 de enero de 2017


.....
M.Sc. VÍCTOR CÁRDENAS LÓPEZ
BIÓLOGO-MICROBIÓLOGO
C.B.P. 1866

Anexo 3

Esquema del flujograma del estudio de la actividad antimicótica del acíbar de las hojas de *Aloe vera* L. "sávila"; Ayacucho 2017.



Anexo 4

Análisis de distribución de los halos de inhibición del acíbar de las hojas de *Aloe vera* "sávila"; Ayacucho 2017.

	Pruebas de normalidad					
	Kolmogorov-Smirnov			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
10%	,213	5	,200*	,963	5	,826
30%	,142	5	,200*	,979	5	,928
50%	,247	5	,200*	,942	5	,678
60%	,159	5	,200*	,990	5	,980
NISTATINA	,180	5	,200*	,953	5	,756

Anexo 5

Análisis de varianza de los halos de inhibición del acíbar de las hojas de *Aloe vera* L. "sávila"; Ayacucho 2017.

ANOVA de un factor					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	227,738	4	56,934	400,342	,000
Intra-grupos	2,844	20	,142		
Total	230,582	24			

Anexo 6

Prueba de comparación múltiple de Tukey de los halos de inhibición del acíbar de las hojas de *Aloe vera* L. "sávila"; Ayacucho 2017.

Halos de inhibición						
HSD de Tukey ^a						
concentración	Subconjunto para alfa = 0.05					
en %	N	1	2	3	4	5
10%	5	13,39980				
30%	5		14,86660			
50%	5			17,00000		
70%	5				20,23340	
NISTATINA	5					21,26660
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 5,000.

Anexo 7

Prueba de comparación múltiple de Dunnett de los halos de inhibición del acíbar de las hojas de *Aloe vera* L. "sávila"; Ayacucho 2017.

Variable dependiente: halos de inhibición en mm						
t de Dunnett (bilateral) ^a						
(I) C en %	(J) Control	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
10%	nistatina	-7,866800*	,238507	,000	-8,49909	-7,23451
30%	Nistatina	-6,400000*	,238507	,000	-7,03229	-5,76771
50%	Nistatina	-4,266600*	,238507	,000	-4,89889	-3,63431
70%	Nistatina	-1,033200*	,238507	,001	-1,66549	-,40091

*. La diferencia de medias es significativa al nivel 0.05.

a. Las pruebas t de Dunnett tratan un grupo como control y lo comparan con todos los demás grupos.

Anexo 8

Diámetro de halos de inhibición (mm) del acíbar de las hojas de *Aloe vera* L. “sávilá”, sobre *Candida albicans* ATCC 10231; Ayacucho 2017.

	Concentración de acíbar de hojas de <i>Aloe vera</i> (%)				Nistatina	Etanol
	10	30	50	70	positivo	negativo
Promedios de	13,500	15,333	17,167	20,000	21,500	0,000
diámetros de halos	13,833	14,833	16,833	20,500	20,833	0,000
de inhibición sobre	13,333	14,667	16,833	20,833	21,333	0,000
<i>Candida albicans</i>	13,333	15,000	17,667	19,667	21,667	0,000
(mm)	13,000	14,500	16,500	20,167	21,000	0,000
Promedio de los						
promedios de los	13,400	14,867	17,000	20,233	21,267	0,000
halos de inhibición						
(mm)						

Anexo 9

Diámetro de halos de inhibición (mm) del acíbar de las hojas de *Aloe vera* L. "sávila". Sobre *Candida albicans* ATCC 10231; Ayacucho 2017.

	Concentración de acíbar de hojas de <i>Aloe vera</i> (%)				Nistatina	Etanol
	1	3	5	7	positivo	negativo
Promedios de	8,333	10,333	12,333	14,167	21,500	0,000
diámetros de halos	8,667	10,833	11,500	13,833	21,000	0,000
de inhibición sobre	8,167	10,167	11,833	13,667	20,833	0,000
<i>Candida albicans</i>	8,500	10,000	12,500	13,500	20,833	0,000
(mm)	8,667	10,667	12,167	13,667	21,500	0,000
Promedio de los promedios de los halos de inhibición (mm)	8,467	10,400	12,067	13,767	21,133	0,000

Anexo 10

Fotografía de la planta, lavado y la extracción del acíbar de las hojas de *Aloe vera* L. "sávilá"; Ayacucho 2017.



Anexo 11

Fotografías de la solubilidad del acíbar de las hojas de *Aloe vera* L. "sávila"; Ayacucho 2017.



Anexo 12

Fotografías del tamizaje fitoquímico del acíbar de las hojas de *Aloe vera* L. "sávila"; Ayacucho 2017.



Anexo 13

Fotografías de las concentraciones del acíbar de las hojas de *Aloe vera* L. "sávila"; Ayacucho 2017.



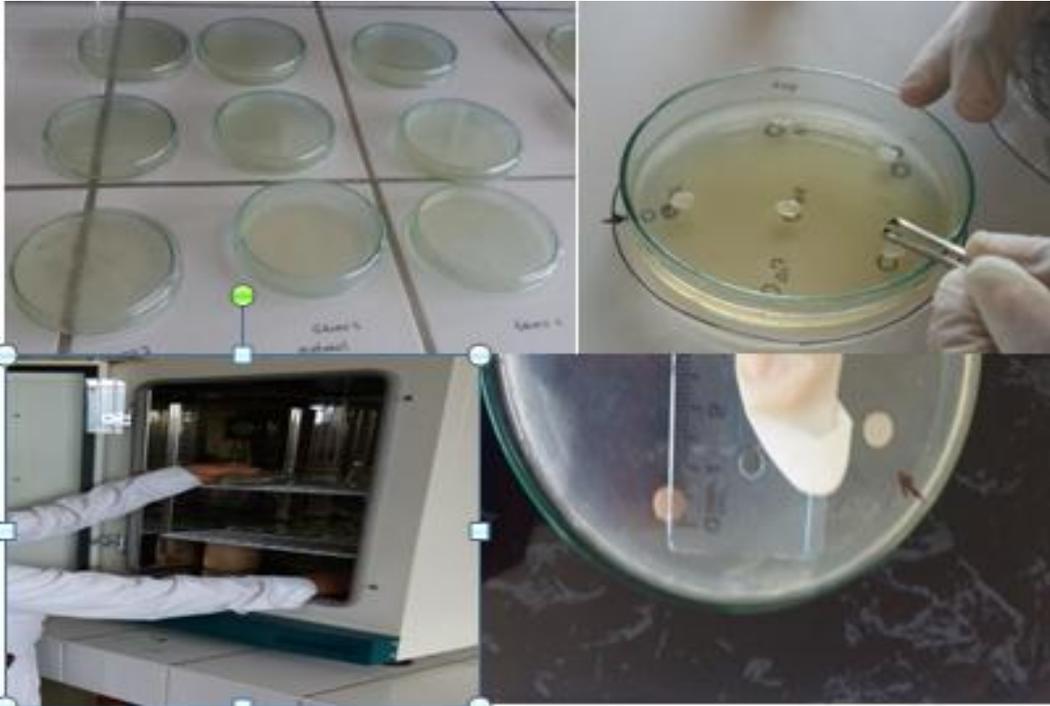
Anexo 14

Reactivación de cepas de *Candida albicans* ATCC10231; Ayacucho 2017.



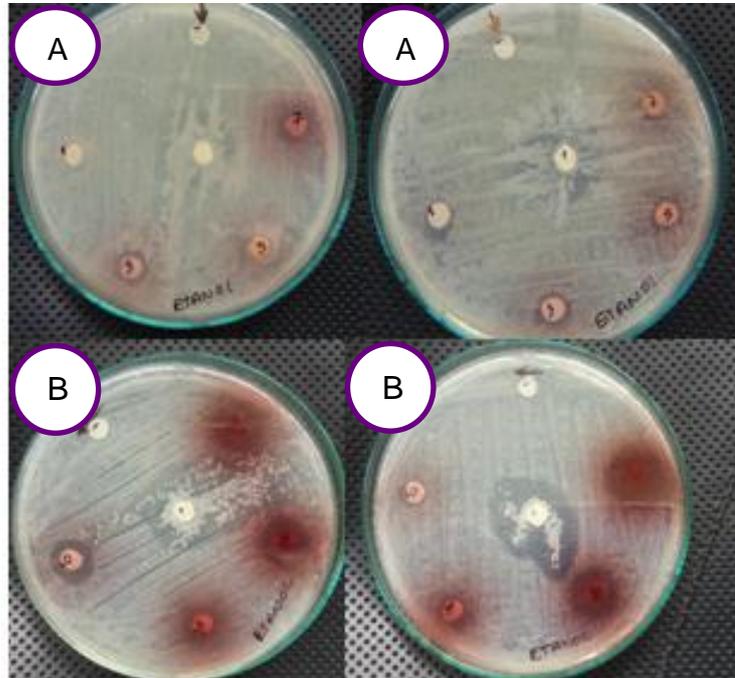
Anexo 15

Fotografías del procedimiento para determinar el halo de inhibición del blanco, estándar y las diferentes concentraciones del acíbar de las hojas de *Aloe vera* L. "sávila"; Ayacucho 2017.



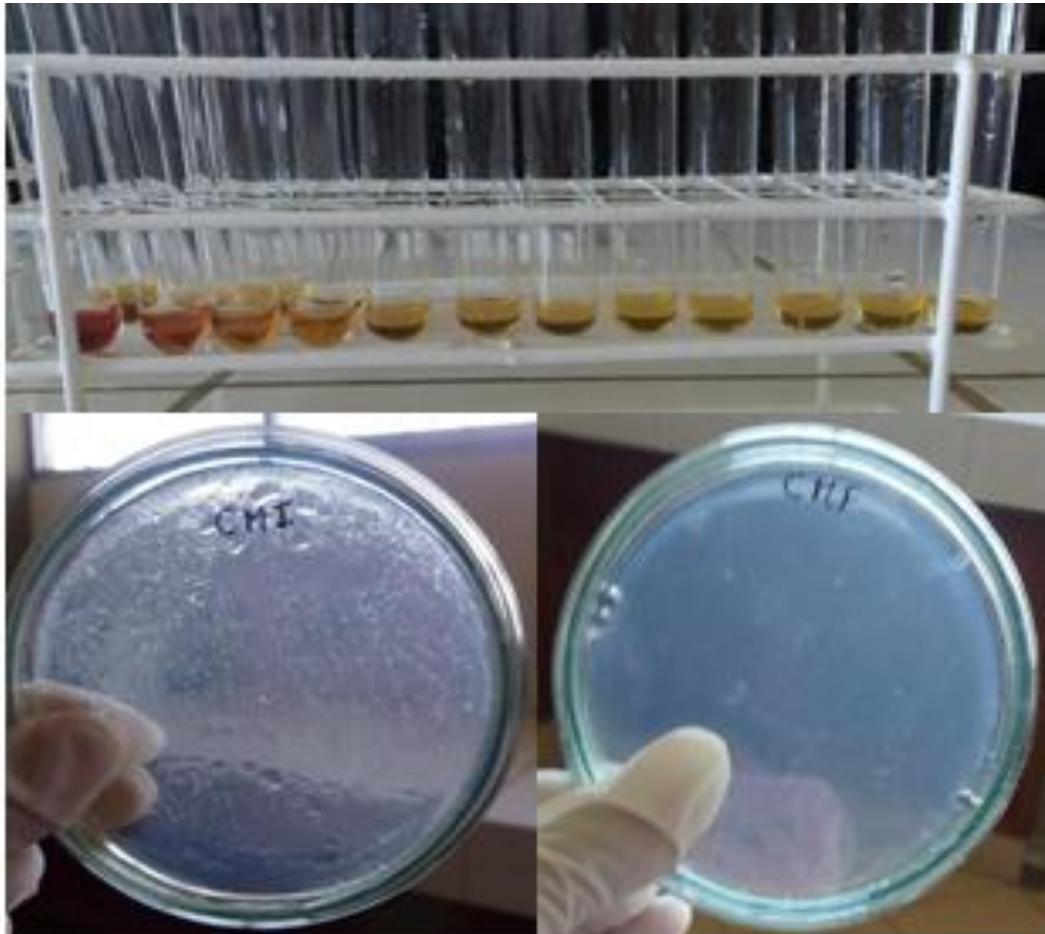
Anexo 16

Halos de inhibición a las concentración de 1%; 3%; 5%; 7% (A) y 10%; 30%; 50% y 70% (B) del acíbar de las hojas de *Aloe vera* L. "sávila"; Ayacucho 2017.



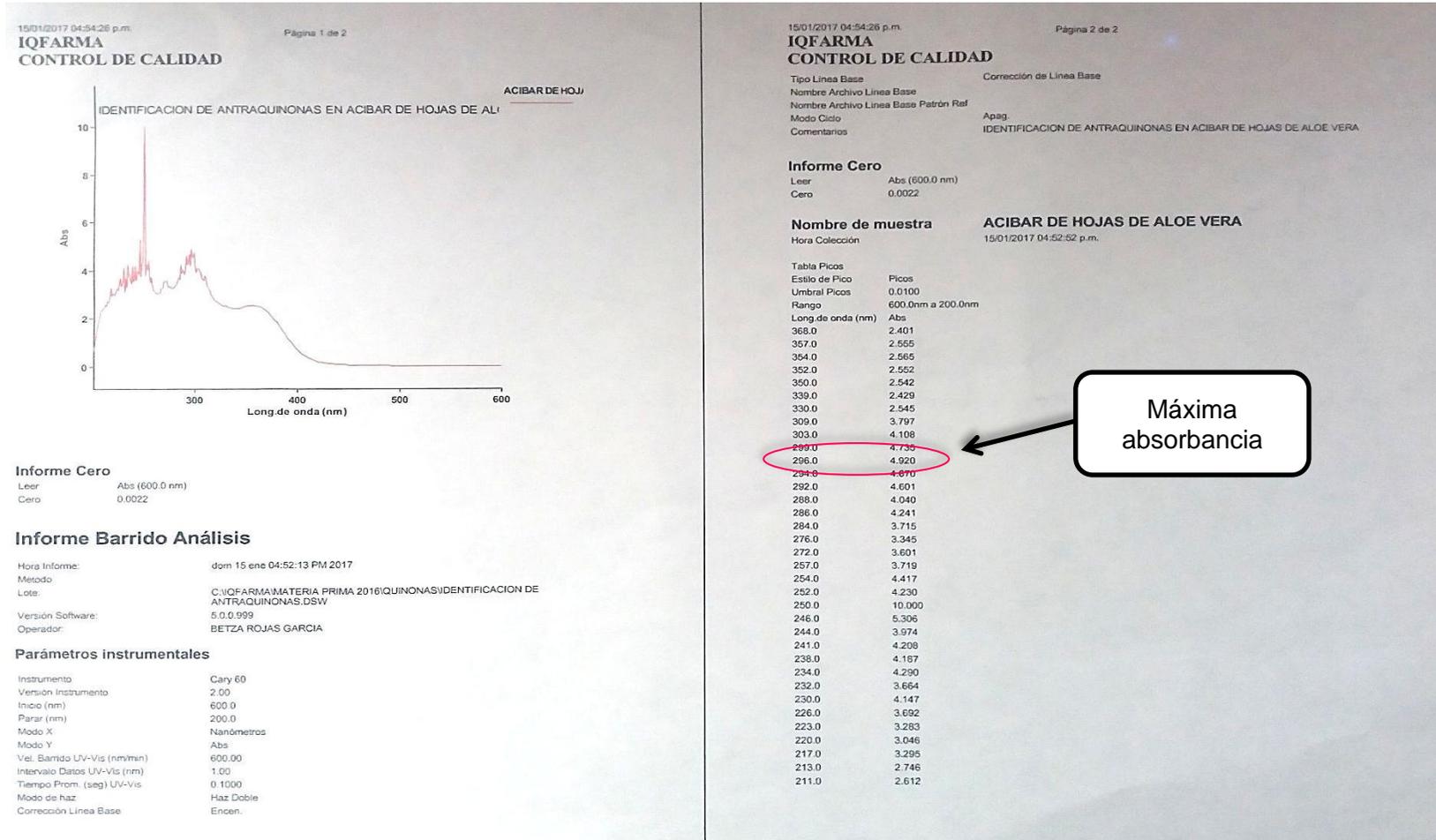
Anexo 17

Concentración mínima inhibitoria (CMI) y concentración mínima fungicida (CMF) de acíbar de las hojas de *Aloe vera* L. "sávila"; Ayacucho 2017.



Anexo 18

Identificación de Antraquinonas en acíbar de hojas de *Aloe vera* L. "sávila"; Ayacucho 2017.



Anexo 19

Matriz de consistencia

TÍTULO	PROBLEMA	OBJETIVO	HIPÓTESIS	VARIABLE	MARCO TEÓRICO	METODOLOGÍA
Actividad antimicótica del acíbar de las hojas de <i>Aloe vera</i> L. "sávila" frente a <i>Candida albicans</i> ATCC 10231. Ayacucho 2016	¿El acíbar de las hojas de <i>Aloe vera</i> L. "sávila" presentará actividad antimicótica frente a <i>Candida albicans</i> ATCC 10231?	<p>Objetivo general</p> <p>Evaluar la actividad antimicótica del acíbar de las hojas de <i>Aloe vera</i> L. "sávila" sobre <i>Candida albicans</i> ATCC 10231</p> <p>Objetivos específicos</p> <ul style="list-style-type: none"> • Realizar el análisis organoléptico y fisicoquímico del acíbar de las hojas de <i>Aloe vera</i> L. "sávila" • Comparar la efectividad antimicótica de las diferentes concentraciones (10%; 30%, 50 y 70%) del acíbar de las hojas de <i>Aloe vera</i> L. "sávila" frente a la Nistatina 100 U.I sobre cepas de <i>Candida albicans</i> ATCC 10231. • Determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) del acíbar de las hojas de <i>Aloe vera</i> L. "sávila" • Determinar la concentración mínima fungicida (CMF) del acíbar de las hojas de <i>Aloe vera</i> L. "sávila" 	El acíbar de las hojas de <i>Aloe vera</i> "sávila" posee actividad antimicótica frente a <i>Candida albicans</i> ATCC 10231	<p>Variable independiente</p> <p>Acíbar de las hojas de <i>Aloe vera</i> L. "sávila"</p> <p>Indicador:</p> <p>Concentraciones de 10%, 30 %, 50% y 70%</p> <p>Variable dependiente</p> <p>Actividad antimicótica</p> <p>Indicadores:</p> <p>Halos de inhibición.</p> <p>Concentración mínima inhibitoria (CMI).</p> <p>Concentración mínima fungicida (CMF).</p>	<p>Hongos</p> <p>Un hongo es un organismo eucariota que es miembro del reino Fungi. Los hongos son un grupo monofilético, también llamado <i>Eumycota</i>.</p> <p>Micosis</p> <p>El término micosis designa a las infecciones causadas por hongos microscópicos.</p> <p><i>Candida albicans</i></p> <p><i>Candida albicans</i> es el más patógeno de este género, es habitualmente de procedencia endógena. En el ser humano, <i>Candida albicans</i> forma parte de la flora microbiana de la boca y el tubo digestivo.</p> <p><i>Candida albicans</i> es una levadura oval gemante que produce un pseudomicelio en cultivo, en los tejidos exudados.</p> <p>Cultivo e identificación de los hongos</p> <p>En micología se utilizan medios específicos, como el Sabouraud, muy rico en glucosa y cuyo pH bajo (pH = 5 – 5,6) dificulta el crecimiento de las bacterias facilitando el crecimiento de los hongos. El crecimiento de levaduras (muguet y vaginitis), en cuyo caso suele ser suficiente incubar a 37 °C </p>	<p>Población: hojas de <i>Aloe vera</i> "sávila" que crecen en el distrito de Huamanguilla, provincia de Huanta de la región Ayacucho. Ubicado a 2750 m.s.n.m.</p> <p>Muestras: 5 Kg de las hojas de <i>Aloe vera</i> "sávila" recolectada en el distrito de Huamanguilla, provincia de Huanta de la región Ayacucho.</p> <p>Microorganismo de ensayo</p> <p>Cepas de <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 proporcionadas por el Área de Microbiología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.</p> <p>Procedimiento metodológico</p> <p>Recolección de la muestra</p> <p>Se recolectaran las hojas de <i>Aloe vera</i> "sávila" en el distrito de Huamanguilla, de la provincia de Huanta. Se elegirán las hojas sanas y maduras de <i>Aloe vera</i> "sávila", mediante un muestreo por conveniencia, para luego lavarlos con la finalidad de eliminar posibles contaminantes</p> <p>Obtención del acíbar de <i>Aloe vera</i></p> <p>Las muestras recolectadas serán transportadas a un lugar adecuado para la extracción.</p> <p>En las hojas de <i>aloe vera</i> se realizaran cortes transversales, dejando una distancia de una pulgada entre cada incisión, se recolecta el acíbar que rezuma de cada incisión, y se depositara en un frasco oscuro estéril a temperatura ambiente.</p> <p>Características organolépticas, Determinación de la densidad, Determinación de la solubilidad, índice de refracción, determinación del pH, polaridad, Análisis Estadístico</p> <p>Los resultados de los halos de inhibición se presentarán en forma de medias y desviación estándar para cada grupo. La diferencia entre la media se contrastará con el análisis de varianza al 95% de confianza. La comparación de los halos de inhibición con el estándar de referencia se realizara con prueba de Dunnett. La influencia de la concentración en los halos de inhibición se evaluara con el estadístico de Duncan. Se hará uso del software estadístico SPSS, versión 21,0.</p>