

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL
DE HUAMANGA

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA DE FORMACIÓN PROFESIONAL DE FARMACIA Y
BIOQUÍMICA



Capacidad antifúngica del extracto de hojas de *Bidens pilosa* L. "sillkau" frente a *Candida albicans*
Ayacucho-2012.

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO

PRESENTADO POR:

Bach. GONZALES GUTIERREZ, MARINA

AYACUCHO - PERÚ

2015

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

R.D. N° 080 – 2015 – UNSCH – FCB – D

Bach. Gonzales Gutiérrez Marina

En la Ciudad de Ayacucho, siendo las cuatro de la tarde con veinticinco minutos de la tarde, del día veinticuatro de abril del año dos mil quince en el Auditorio de la Facultad de Ciencias Biológicas, reunidos profesores miembros del jurado evaluadores Mg. Serapio Romero Gavilán, Blga. Edna León Palomino, Dr. Edwin Carlos Enciso Roca, presididos por el Dr. Tomas Castro Carranza y secretario Blgo. Elbert Hermoza Valdivia con la finalidad de recepcionar en acto público la Tesis Capacidad Antifúngica del extracto de hojas de *Bidens pilosa* "sillkau" frente a *Candida albicans* Ayacucho 2012 presentado por la Bachiller en Farmacia y Bioquímica Marina Gonzales Gutiérrez con la que pretende optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico.

En vista de encontrarse la documentación en orden, el señor presidente del jurado evaluador Dr. Tomas Castro Carranza da la autorización a la sustentante para que de inicio con su sustentación, lo cual a realizado inmediatamente por la sustentante; en el tiempo reglamentario de cuarentaicinco minutos.

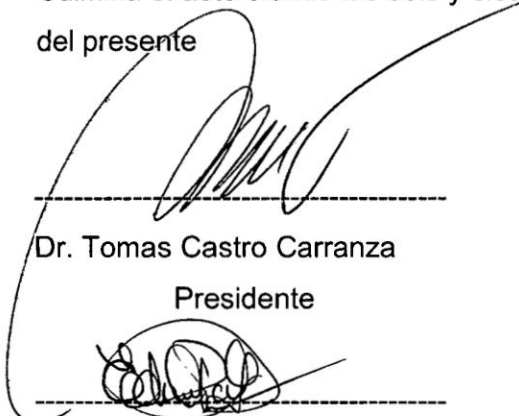
Concluida con su exposición, el presidente del jurado evaluador invita a los miembros del jurado para que puedan realizar sus preguntas, a solicitar sus aclaraciones si es que latuvieran, a la que la sustentante da respuesta. Terminada las preguntas, se invita a la sustentante y al público asistente para que puedan hacer abandono del auditorio de la Facultad con la finalidad de poder efectuar la deliberación a cerca del trabajo en su exposición, ver pregunta a pregunta etc. Habiendo llegado a la conclusión siguiente:

Miembro jurado	Exposición	Rpta.	Preguntas	Promedio
Dr.Tomas Castro Carranza		17	17	17
Mg. Serapio Romero Gavilán		15	15	15
Blga. Edna León Palomino		17	17	17
Dr. Edwin Carlos Enciso Roca		16	16	16


Promedio 16

Teniendo como resultado la nota promedio de Dieciséis (16) que resulta ser aprobado. Es así que se la invitación a la sustentante para que ingrese al auditorio de la facultad. Lo mismo se hace con el público asistente con la finalidad de dar a conocer en forma pública el resultado del acto de sustentación, así mismo imponer la medalla como reconocimiento al nuevo profesional y efectuar el juramento respectivo.

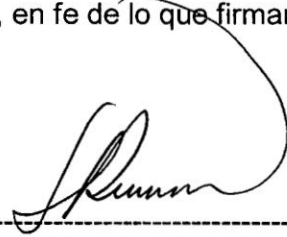
Culmina el acto siendo las seis y siete minutos de la tarde, en fe de lo que firman al pie del presente



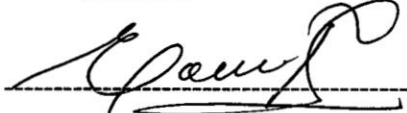
Dr. Tomas Castro Carranza
Presidente



Blga. Edna León Palomino
Asesora



Mg. Serapio Romero Gavilán
Miembro



Dr. Edwin Carlos Enciso Roca
Miembro



Blgo. Elbert Hermoza Valdivia

Secretario

DEDICATORIA

A mis padres Julio y Victoria.

AGRADECIMIENTOS

A La Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, *alma mater* de nuestra formación profesional.

A la Facultad de Ciencias Biológicas, en especial a la Escuela de Formación Profesional de Farmacia y Bioquímica, por brindarme las herramientas necesarias para mi desenvolvimiento profesional.

A la Blga. Edna León Palomino, por su valioso asesoramiento y apoyo en la realización del presente trabajo de investigación.

A todas las personas que de una u otra manera, colaboraron en la realización y conclusión del presente trabajo de investigación.

ÍNDICE GENERAL

	Página
DEDICATORIA	III
AGRADECIMIENTO	V
INDICE GENERAL	VII
INDICE DE TABLAS	IX
INDICE DE ANEXOS	XI
RESUMEN	XIII
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	3
2.1. Antecedentes	3
2.2. <i>Bidens pilosa</i>	6
2.2.1. Clasificación taxonómica	6
2.2.2. Descripción botánica	6
2.2.3. Composición química	6
2.2.4. Propiedades farmacológicas de <i>Bidens pilosa</i> L“sillkau”	7
2.3. Metabolitos secundarios	8
2.3.1. Flavonoides	8
2.3.2. Cumarinas	8
2.3.3. Alcaloides	9
2.3.4. Taninos	9
2.3.5. Aceites esenciales	9
2.3.6. Saponinas	9
2.4. Hongos	10
2.5. Genero <i>Candida</i>	10
2.5.1. Morfología	11
2.5.2. Epidemiología	11
2.5.3. <i>Candida albicans</i>	12
2.6. Antifúngicos.	12
2.6.1. Ketoconazol	13
III. MATERIALES Y MÉTODOS	15
3.1. Ubicación	15
3.2. Materiales	15
3.3. Diseño metodológico para la recolección de datos	15

3.4. Análisis estadístico	18
IV. RESULTADOS	19
V. DISCUSIÓN	25
VI. CONCLUSIONES	29
VII. RECOMENDACIONES	31
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	33
ANEXOS	37

ÍNDICE DE TABLAS

		Página
Tabla 1:	Diluciones decreciente de extractos de hojas de <i>Bidens pilosa</i> L. "sillkau".	18
Tabla 2:	Diámetro de halos de inhibición (mm) del extracto acuoso de hojas de <i>Bidens pilosa</i> L "sillkau" Ayacucho -2012	20
Tabla 3	Diámetro de halos de inhibición del extracto etanólico de hojas de <i>Bidens pilosa</i> frente a <i>Candida albicans</i> ATCC 10231. Ayacucho-2012	21
Tabla 4	Diámetro de halos de inhibición del extracto metanólico de hojas de <i>Bidens pilosa</i> L "sillkau" frente a <i>Candida albicans</i> ATCC 10231. Ayacucho-2012.	22
Tabla 5	Concentración mínima inhibitoria (CMI) del extracto acuoso, etanólico y metanólico de hojas de <i>Bidens pilosa</i> "sillkau" frente a <i>Candida albicans</i> ATCC 10231. Ayacucho-2012	23
Tabla 6:	Concentración Mínima Fungicida (CMF) del extracto acuoso, etanólico y metanólico de hojas de <i>Bidens pilosa</i> L "sillkau" frente a <i>Candida albicans</i> ATCC 10231. Ayacucho-2012.	24

ÍNDICE DE ANEXOS

	Página
Anexo 1: Planta <i>Bidens pilosa</i> L. "sillkau". Ayacucho-2012	38
Anexo 2: Certificado de identificación taxonómica de <i>Bidens pilosa</i> "sillkau"	39
Anexo 3: Diagrama de flujo de metodología.	40
Anexo 4: Análisis de varianza de halos de inhibición del extracto acuoso de hojas de <i>Bidens pilosa</i> L "sillkau" Ayacucho 2012..	41
Anexo 5: Análisis de varianza de los halos de inhibición del extracto etanólico de <i>Bidens pilosa</i> "sillkau" Ayacucho 2012.	42
Anexo 6: Análisis de varianza de los halos de inhibición del extracto metanólico hojas de <i>Bidens pilosa</i> "sillkau" Ayacucho 2012.	43
Anexo 7: Extracto acuoso, etanólico y metanólico de hojas de <i>Bidens pilosa</i> L. "sillkau" a (100 mg/ml). Ayacucho-2012	44
Anexo 8: <i>Candida albicans</i> ATCC 10231. Ayacucho-2012	45
Anexo 9: Siembra de <i>Candida albicans</i> ATCC 10231. Ayacucho-2012	46
Anexo 10: Halos de inhibición del extracto acuoso de hojas de <i>Bidens pilosa</i> L "sillkau" después de 48 horas. Ayacucho-2012	47
Anexo 11: Halos de inhibición del extracto etanólico de hojas de <i>Bidens pilosa</i> L "sillkau" después de 48 horas. Ayacucho-2012.	48
Anexo 12: Halos de inhibición metanólico de hojas de <i>Bidens pilosa</i> L "sillkau" después de 48 horas. Ayacucho-2012.	49
Anexo 13: Concentración Mínima Fungicida (CMF).del extracto acuoso después de 24 horas. Ayacucho-2012	50
Anexo 14 Concentración Mínima Fungicida (CMF) del extracto etanólico de hojas de <i>Bidens pilosa</i> L "sillkau" después de 24 horas.	51

Anexo 15	Concentración Mínima Fungicida (CMF) del extracto metanólico de hojas de <i>Bidens pilosa</i> "sillkau" después de 24 horas".	52
Anexo 16	Matriz de Consistencia	53

RESUMEN

El presente trabajo tiene por objetivo evaluar la capacidad antifúngica del extracto acuoso, etanólico y metanólico de hojas de *Bidens pilosa* L. "sillkau" frente a *Candida albicans*. Asimismo determinar la Concentración mínima inhibitoria y la Concentración mínima fungicida de los tres extractos frente a *Candida albicans*. Los experimentos fueron realizados en los Laboratorios de Bromatología y Microbiología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, durante los meses de abril a agosto del 2012. La muestra de *Bidens pilosa* L. fue recolectada en el campo de cultivo de distrito de Carmen Alto, provincia de Huamanga, departamento de Ayacucho a 2760 m.s.n.m y la cepa de ensayo fue *Candida albicans* ATCC 10231 proporcionado por el laboratorio de Microbiología del Hospital Regional de Ayacucho. Los extractos de hojas de *Bidens pilosa* L "sillkau" se obtuvieron por maceración durante siete días con constante agitación para el extracto etanólico y metanólico, y el extracto acuoso se llevó a decocción durante 20 minutos. La capacidad antifúngica de los extractos se determinó mediante el método Kirby – Bauer a las concentraciones de 2 mg/ml, 4 mg/ml y 6 mg/ml; obteniéndose el mayor halo de inhibición para el extracto acuoso 15,3 mm a una concentración de 6 mg/ml y para extracto etanólico de 15,2 mm a una concentración de 6 mg/ml y el extracto metanólico de 14,2 mm a una concentración de 6 mg/ml. Así mismo se determinó la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) por el método dilución en caldo y la Concentración Mínima Fungicida. Presentando la concentración mínima inhibitoria (CMI) para el extracto acuoso y el extracto etanólico de 0,375 mg/m y para el extracto metanólico de 0,75 mg/ml y la concentración mínima Fungicida (CMF) para el extracto acuoso y para el extracto etanólico de 0,75 mg/ml y metanólico a una concentración de 1,5 mg/ml respectivamente. Se concluye que el extracto acuoso, etanólico y metanólico de las hojas de *Bidens pilosa* L. "sillkau" tienen capacidad antifúngica frente a *Candida albicans* ATCC 10231.

Palabras clave. *Bidens pilosa* L., *Candida albicans*, Concentración Mínima Inhibitoria, Concentración Mínima Fungicida, Capacidad antifúngica.

I INTRODUCCIÓN

La medicina tradicional a base de plantas medicinales es un campo interesante y se convierte en una alternativa terapéutica para patologías específicas por su bajo costo y fácil acceso a la población de bajos recursos económicos. La actividad antifúngica de extractos de plantas usadas en la medicina popular contra diversos hongos patógenos, que afecta al hombre, es ampliamente estudiada por muchos investigadores a fin de encontrar una alternativa de tratamiento a las drogas sintéticas a las que se han vuelto resistente.¹

Los hongos que ocasionan una infección en el anfitrión se denominan patógenos primarios cuya característica manifiesta una determinada virulencia atravesando las barreras de la defensa del anfitrión. Los anfitriones inmunodeprimidos fácilmente son infectados por patógenos oportunistas más que los individuos sanos.²

Toda la especie perteneciente al género *Candida* son patógenos oportunistas frecuentes. Actualmente se sabe que estos microorganismos colonizan la mucosa digestiva y pasan al torrente circulatorio mediante un proceso de translocación gastrointestinal o a través de catéteres contaminados e interaccionan con la defensa del organismo anfitrión para invadir los tejidos más profundos. La mayoría de las micosis orales están producidas por levaduras de *Candida albicans*.³ *Candida albicans* proviene del latín *Candidus* que significa blanco brillante. Por ello una infección por este hongo da un aspecto blanco en los cultivos aislados.⁴ La candidiasis vaginal se registra como la segunda causa más frecuente del síndrome de flujo vaginal en la mujer.⁵

La planta *Bidens pilosa* L. "sillkau" ha sido estudiada ampliamente por sus diversas propiedades farmacológicas, como antiinflamatorio, antiulcerosa,⁶ cicatrizante,⁷ diurética,⁸ y otros. Los principales metabolitos secundarios de mayor concentración presentes en la planta son: los taninos, flavonoides, y cumarinas.⁷ Los estudios de *Bidens pilosa* L., con propiedades antimicótica tienen resultados contradictorios por lo que se plantea los siguientes objetivos:

Objetivo general

Evaluar la capacidad antifúngica de los extractos acuoso, etanólico y metanólico de hojas de *Bidens pilosa* L. "sillkau" frente a *Candida albicans*.

Objetivos específicos

Determinar la Concentración mínima inhibitoria (CMI) de los extractos acuoso, etanólico y metanólico de hojas de *Bidens pilosa* L. "sillkau" frente a *Candida albicans*.

Determinar la Concentración mínima fungicida (CMF) de los extractos acuoso, etanólico y metanólico de hojas de *Bidens pilosa* L. "sillkau" frente a *Candida albicans*.

II MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

Bidens pilosa L., produce una variedad de metabolitos secundarios, tales como flavonoides, fenilacetileno, alcaloides, esteroides, terpenos, taninos. El aceite esencial y los extractos de las hojas y flores de *Bidens pilosa* L. ejercen importante actividad antibacteriana frente a bacterias Grampositiva y Gramnegativa. Los aceites esenciales tienen mayor actividad antimicrobiana que los extractos. Una explicación podría ser que los monoterpenos de los aceites esenciales destruyen la integridad celular e inhibe el proceso de respiración celular y transporte de iones.⁹

La evaluación de la actividad antimicrobiana y Concentración mínima inhibitoria (CMI) de los extractos de *Bidens pilosa* L., *Bixa orellana* L., *Cecropia peltata* L., *Cinchona officinalis* L., *Gliricidia sepsium* HB & K, *Jacaranda mimosifolia* D, *Justicia secunda* Vahl, *Piper pulchrum* C.DC, *P. paniculata* L., *Spilantes americana* contra cinco bacterias (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus β hemolitic*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli*) y una levadura (*Candida albicans*), se observó que los extractos acuosos de *Bidens pilosa* L., *Jacaranda mimosifolia* Don y *Piper pulchrum* C. DC mostraron una mayor actividad contra *Bacillus cereus* y *Escherichia coli*. Así también, los extractos etanólico de todas las especies fueron activos frente a *Staphylococcus aureus* a excepción de *Justicia secunda*, además, *Bixa orellana*, *Justicia secunda* vahl y *Piper pulchrum* C. DC presentó menor Concentración mínima inhibitoria (CIM) contra *Escherichia coli* (0,8, 0,6 y 0,6 g/ml, respectivamente). *Justicia secunda* y *Piper pulchrum* C. DC mostraron una CIM análoga contra

Candida albicans (0,5 y 0,6 g/ml, respectivamente) en comparación con nistatina (0,6 µg/ml) *Bixa orellana* L., exhibió una mejor Concentración mínima inhibitoria frente a *Bacillus cereus* (0,2 g/ml), los extractos de *Bidens pilosa* L. no presentó efecto antimicótico frente a *Candida albicans*.¹⁰

La actividad antifúngica *in vitro* de doce extractos etanólico correspondientes a diez plantas medicinales peruanas; *Annona cherimolia* Mill. (Hojas), *Annona muricata* L. (corteza y hojas), *Bidens pilosa* L. (partes aéreas), *Hypericum laricifolium* L. (partes aéreas), *Juglans neotropica* Diels (corteza), *Piper spp.* (hojas), *Plantago major* L. (hojas), *Psidium guajava* L. (hojas), *Schinus molle* L. (corteza y hojas) y *Spartium junceum* L. (planta entera), que fueron recolectadas en el departamento de Amazonas, excepto *Schinus molle* L. (Apurímac) y *Annona muricata* L. (Lima) frente a *Candida albicans* y *Aspergillus niger*, se encontró que, de todas las plantas estudiadas, sólo seis presentaron actividad antifúngica consistente con un diámetro de halos de inhibición ≥ 18 mm frente a *Candida albicans* ATCC 10231 y *Aspergillus niger*, y la Concentración mínima inhibitoria (CMI) mediante el método de dilución en agar. El extracto etanólico de *Bidens pilosa* L. no tiene efecto antimicótico frente a *Candida albicans*.¹¹

La determinación de la actividad antifúngica *in vitro* de los extractos metanólico, etanólico e hidroalcohólico de *Hypericum laricifolium* (partes aéreas), *Ilex guayusa* loes (hojas), *Juglans neotropica* Diels (corteza), *Piper lineatum* (hojas), *Piper spp.* (Hojas), *Psidium guajava* (hojas), *Cassia reticulata* Wild (planta entera) y *Terminalia catappa* (hojas); recolectadas en los departamentos de Amazonas y Cajamarca frente a tres cepas. Se evaluó la actividad antifúngica, mediante el método de difusión en agar, frente a *Candida albicans* ATCC 10231, *Aspergillus niger* ATCC 16404 y *Microsporum canis* cepa clínica y para determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) se realizó por el método de microdilución colorimétrico, utilizando como controles ketoconazol y fluconazol. Todos los extractos presentaron actividad antifúngica importante frente a *Candida albicans*. La concentración mínima inhibitoria del extracto etanólico de *Ilex guayusa* loes y extracto metanólico de *Piper spp.* frente a *Candida albicans* fue (250, 2000 µg/ml) y *Microsporum canis*, y ninguno extracto tuvo actividad frente a *Aspergillus niger*.¹

Al evaluar la actividad antimicótica *in vitro* del aceite esencial de *Minthostachys mollis* "muña", se encontró que, mediante el método de agar en difusión, el aceite esencial inhibió el crecimiento de *Candida albicans* hallándose un halo de

inhibición de 30 mm para el aceite esencial al 100% y 35 mm al 50%. Probablemente por la acción de monoterpenos (pulegona, mentona, limoneno y mircenol).¹³

Los flavonoides obtenidos del extracto etanólico de tallos y hojas de *Lantana camara* poseen actividad antifúngica frente a especies de *Candida* spp. (*Candida albicans*, *Candida dubliniensis*, *Candida krusei*, *Candida guilliermondii*, *Candida tropicalis*, *Candida parapsilosis*) y un aislamiento primario de *Candida albicans*.¹⁴

Las diferentes concentraciones ensayadas *in vitro*, de *Allium sativum* "ajo", liofilizado poseen efecto antimicótico sobre dermatofitos y *Candida albicans*. La actividad antimicótica se demostró por el método de difusión en agar, para *Candida albicans*. Se obtuvo mayor halo de inhibición para las concentraciones de 4000 y 5000 µg/ml y para los dermatofitos la mayor inhibición fue entre 300 y 400 µg/ml. La determinación de la Concentración mínima inhibitoria (CMI) y Concentración mínima fungicida (CMF), mediante el método de dilución en tubo, dio como resultado una concentración inhibitoria a 250 µg/ml y un efecto fungicida a 5000 µg/ml para *Candida albicans* y para dermatofitos un efecto inhibitorio a 500 µg/ml y Concentración Mínima Fungicida a la concentración de 1000 µg/ml.¹⁵

El estudio de la actividad antifúngica *in vitro* de los extractos etanólico y acuoso de 10 plantas utilizadas en la medicina popular, en Argentina, contra cuatro cepas de hongos (*Candida albicans*, *Sacharomyces cereviceae*, *Aspergillus niger*, *Penicillium notatum*), encontró que, de todas las plantas, sólo cuatro mostraron actividad antifúngica, el extracto etanólico de *Larrea divaricata* Cav inhibió el crecimiento de *Candida albicans* a una Concentración mínima inhibitoria de 20 mg/ml. Las decocciones de *Gnaphalium gaudichaudianum* D.C, *Baccharis trimera* Less y *Schinus terebenthifolius* inhibieron el crecimiento de *Candida albicans* a la Concentración Mínima Inhibitoria de 250 mg/ml y ninguno de los extractos etanólico y acuoso inhibió el crecimiento de *Aspergillus niger*.¹⁶

Al evaluar la composición química, la actividad antioxidante, actividad antibacteriana y actividad antifúngica de los aceites esenciales de las hojas frescas y flores de *Bidens pilosa* L., se identificó cuarenta y cuatro componentes, de los cuales β-cariofileno (10,9% y 6,13%) y τ-cadideno (7,82% y 6,13%), fueron los principales compuestos en las hojas y flores. Los aceites y los extractos acuosos de hojas y flores demostrando que el aceite tiene mejor efecto antioxidante que el extracto acuoso. Los aceites y extractos acuosos de hojas y

flores tienen efecto antibacteriano y antifúngico.¹⁷

Al evaluar el efecto antimicrobiano *in vitro* de los extractos etanólico, de hojas secas de *Bidens pilosa* L., *Lantana cámara*, *Schinus molle* y *Silybum marianum*, frente a tres cepas patógenas: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Pseudomona aeruginosa*. La actividad antimicrobiana de cada extracto, se determinó por dos métodos: difusión en disco y difusión en pozo, los extractos etanólico de *Bidens pilosa* L., *Lantana cámara* y *Schinus molle* mostraron actividad inhibitoria contra *Staphylococcus aureus*, donde el extracto etanólico *Bidens pilosa* L. presentó 17,66 mm de diámetro de halo de inhibición por el método disco difusión: y por método difusión en pozo dio 30,66 mm de halo de inhibición, comparado con cloranfenicol y el *Silybum marianum* no posee actividad frente a la bacteria estudiada.¹⁸ El aceite esencial de cortezas de *Cinnamomun zeylanicum* Breyn "canela", obtenidas por arrastre de vapor, y la actividad antifúngica determinado por el método de Kirby Bauer, se encontró que *Candida albicans* presenta alta sensibilidad al aceite esencial. La Concentración mínima inhibitoria (CMI) para *Cándida albicans* fue de 0,01895 mg/ml y la Concentración mínima fungicida (CMF) fue de 0,020529166 mg/ml.¹

2.2. *Bidens pilosa* L "sillkau"

2.2.1. Clasificación Taxonómica

DIVISIÓN	: MAGNOLIOPHYTA
CLASE	: MAGNOLIOPSIDA
SUBCLASE	: ASTERIDAE
ORDEN	: ASTERALES
FAMILIA	: ASTERACEAE
GÉNERO	: <i>Bidens</i>
ESPECIE	: <i>Bidens pilosa</i> L.
NOMBRE VULGAR	: "sillkau".

Fuente: certificado expedido por el jefe del *Herbarium Huamangensis* de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga por el método de Cronquis para plantas con flores (anexo 2).

2.2.2. Descripción botánica

Planta cosmopolita. Aparentemente nativa de la región del Caribe. Espontánea en Amazonas, Ayacucho, Cajamarca, Cuzco, Huánuco, Junín, La Libertad, Loreto, San Martín. Hierba erecta, de aproximadamente 1 m de alto, tallo angulado. Hoja compuesta, aserradas, agudos en el ápice, obtusos en la base, 5

cm de largo, 1,5 cm ancho. Inflorescencia de pocas cabezuelas terminales, cada cabezuela hasta de 1,5 cm de largo. Flores amarillas, liguladas ausentes. Fruto aquenio linear, el pappus reducido a tres cerdas puntiagudas.⁶

2.2.3. Composición Química

Agua 83,33%; materia nitrogenada 2,27%; materia grasa 0,43%; materia no nitrogenada 8,15%; materia fibrosa 3,94% y materia mineral 1,84% (de ello 36,77% es óxido de potasio; 17,86% es óxido de calcio; 8,43% es ácido silícico; 6,69% de ácido fosfórico). Y 1,43% de aire. La planta *Bidens pilosa* L. posee aceites esenciales, fitoesteroles, taninos tipo catecol, polisacáridos, flavonoides, aminas, mucílagos, terpenos, compuestos poliacetilenicos, glucósidos friedelina,^{19, 20} esteroides y esteroides, glicósidos aurona y chalconas. También se encontró saponinas, alcaloides, azúcares reductores carotenos, y fenoles. D-galacturónico, L-arabinosa; D-galactosa, D-glucosa, L-ramnosa y D-xilosa.^{21, 10}

2.2.4. Propiedades farmacológicas de *Bidens pilosa* L. Sillkauer

Las hojas de *Bidens pilosa* L se utilizan en infusión y cocido, también se mastican para las anginas, en la amigdalitis catarral, para las aftas bucales, infecciones renales, úlceras gastroduodenales, como cataplasma sobre heridas y tumores, para infecciones abdominales y cólicos. Las flores, hojas y raíces son usadas como antidontálgicas. También las flores se utilizan como antidiarreico y la raíz para el dolor de oído. Las semillas tostadas para incisiones externas y el zumo de la planta entera como antídoto en casos de envenenamiento, también se utiliza como un estimulante débil de la musculatura lisa del útero, tranquilizante, hemostática, emoliente, antitusiva, antipirética, antiséptica para la irritación de la piel y lavados vaginales, para dolores osteoarticulares, haciéndose aplicación tópica, diurética y antibiótica.^{21, 22, 23, 6, 8, 24}

Arroyo determinó que el extracto etanólico de la planta entera de *Bidens pilosa* L. tiene efecto citoprotector en células de colon de ratas Holtzman. Además se encontró que los flavonoides y los compuestos fenólicos inhiben el estrés oxidativo celular y reduce notablemente el crecimiento de tumores en el colon.²⁵ Los compuestos fenólicos y flavonoides extraídos de la planta entera de *Bidens pilosa* L. poseen efecto quimioprotector contra el cáncer de mama (inducido con 7,12-dimetilbenceno) en ratas. Así también, el extracto metanólico disminuyó el desarrollo de adenocarcinoma mamario.^{26, 27}

Los compuestos fenólicos del extracto metanólico de *Bidens pilosa* L., tiene efecto quimioprotector sobre la neoplasia gástrica, inducida con N-nitroso-N-

metilurea sobre ratas albinas Holtzman deteniendo el avance de la neoplasia gástrica.²⁸

La administración del extracto acuoso de *Bidens pilosa* L., en una dosis diaria durante 28 días, redujo significativamente los niveles de la glucosa en la sangre y el aumento de insulina en suero en ratones con diabetes tipo 2. Este estudio mostró que el extracto acuoso, de *Bidens pilosa* L., estimula la secreción de insulina por medio de los islotes pancreáticos.²⁹

2.3 Metabolitos secundarios

Las plantas medicinales típicamente contienen una mezcla de diferentes compuestos químicos que pueden actuar individualmente, aditivamente o sinérgicamente para mejorar la salud. Una sola planta puede contener, sustancias que pueden actuar como antibióticos naturales.¹¹

2.3.1. Flavonoides

Compuestos fenólicos en su mayoría, son pigmentos responsables de la coloración de numerosas flores y de algunos frutos; tienen un esqueleto de C₁₅ en su núcleo básico, bajo un sistema C₆-C₃-C₆, en el cual dos anillos aromáticos A y B están unidos por una unidad de C₃ que pueden formar o no un tercer anillo, que en caso de existir es llamado anillo C. se encuentran en mezclas como agliconas o glucósidos, dentro de este grupo de compuestos están los: flavonoles, flavonas, isoflavona y sus respectivos derivados. Cada una de las clases de flavonoides, suele encontrarse bajo la forma de glicósidos con una o tres unidades de azúcar, los más comunes son: glucosa, galactosa, ramnosa, xilosa y arabinosa.

La acción farmacológica de los flavonoides es variada, son dilatadores de las venas coronarias (gingko), espasmolíticos (apigenina), antihepatotóxico (silimarina de *sylibum*), colerética, y diurética, insecticida (rotenona), preservantes de las grasas y jugo de frutas por su efecto antioxidante, edulcorantes (por los glucosidos), antimicrobiana y la acción fungitóxica de las isoflavonas.^{30, 31, 33}

2.3.2. Cumarinas

Son derivados de la benzo- alfa -pirona, comúnmente sintetizados en las plantas, se les incluye entre los derivados fenólicos. A las cumarinas se les atribuye diversas actividades farmacológicas tales como: acción anticoagulante y antibacteriana del dicumarol, la acción antibiótica de la novobiocina, así también son hepatotóxicas y carcinogénicas de ciertas componentes de la aflatoxinas,

acción insecticida; cabe destacar también aplicaciones de las cumarinas como saborizante y en la perfumería.^{30, 32}

2.3.3. Alcaloides

Los alcaloides son sustancias orgánicas nitrogenadas con carácter básico y mayormente de origen vegetal. También hay alcaloides de animal y bacteriano. Son metabolitos frecuentes en las plantas, habiéndose encontrado cerca de 10,000 alcaloides en aproximadamente 20% de plantas con flores, principalmente dicotiledóneas herbáceas. Los alcaloides provienen del metabolismo de los aminoácidos, principalmente tirosina, triptófano, arginina y lisina, y aunque algunos alcaloides se encuentran en varios géneros o una familia, su distribución está restringida a determinados órganos de la planta, como raíces, hojas o frutos jóvenes. La acción farmacológica es sumamente amplia: analgésicos, narcóticos, estimulantes, midriáticos, convulsionantes, anestésicos, etc.³⁰

2.3.4. Taninos

Los taninos son compuestos químicos no cristalizables que forman con el agua soluciones coloidales de reacción ácida y de sabor muy acre, los taninos precipitan a las proteínas en solución y se combinan con ellas; haciéndolas resistentes a las enzimas proteolíticas; aplicado a los tejidos vivos, esta acción se conoce como acción astringente y constituye la base para la acción terapéutica. En quemaduras, las proteínas de los tejidos visibles precipitan y forman una capa protectora antiséptica permitiendo así la regeneración de los tejidos.³⁰ Los compuestos fenólicos son hidrosolubles, tienen un peso molecular comprendido entre 500 y 300 g/mol, presentan junto a la reacción clásica de los fenoles la propiedad de precipitar alcaloides, gelatina y otras proteínas.³³ Se usa como antídoto para tratar intoxicaciones por metales pesados y alcaloides. Es astringentes, precipita proteínas de la piel (curtido de la piel), proteínas salivares, etc. Por su propiedad astringente se usa por vía externa como cicatrizantes y por vía interna antidiarreicos. Es antiséptico, tienen acción bactericida y bacteriostática y antifúngica.^{32,33}

2.3.5 Aceites esenciales

Son sustancias volátiles obtenidas mediante proceso a partir de especies aromáticas caracterizado por una composición compleja, en la que predominan derivados terpénicos y fenilpropánicos, considerados como el grupo fitoquímico más importante que confieren olor a las especies vegetales que los contienen,

con propiedades antisépticos frente a microorganismos grampositivos y gramnegativos e incluso frente a micosis y ciertas levaduras de *Candida Sp*³³.

2.3.6. Saponinas

Las saponinas son heterósidos que se caracterizan por su capacidad para producir espuma al agitarse la solución acuosa que los contiene. Las saponinas son estructuras formadas por una parte glusídica (azúcar) y una parte no glusídica (aglicón) denominados sapogenina. Las drogas con saponinas pueden presentar diferentes aplicaciones farmacológicas: antimicrobianas, antivíricas, antimicótico, cicatrizante antiinflamatoria, antidiarreico, antihemorroidal.³

2.4. Hongos

Los hongos son organismos eucariotas, miembros del reino fungi. Los hongos son muy diferentes de las bacterias, que son microorganismos procariotas. Las células de los hongos se diferencian de las plantas en la composición de la pared celular y carecen de clorofila y cloroplastos; y de las células humanas por la presencia de la pared celular y por la presencia de ergosterol en la membrana citoplasmática. Los hongos presentan dos formas de crecimiento: filamentosas también denominados miceliales que producen colonias algodonosas o pulverulentas en medio de cultivo sólido y forman grandes agregados que se depositan en las paredes y en el fondo del recipiente en medio de cultivo líquido; unicelular llamada levadura presentan colonias lisas, redondas en medio de cultivo sólido y en medio líquido originan una turbidez homogénea.³ Las infecciones causadas por los hongos se denomina micosis siendo micosis superficiales, cutáneas, subcutáneas, oportunistas causado por género *Candida*.^{34, 35, 36}

2.5.

Genero *Candida*

El género *Candida* comprende más de 150 especies de levaduras, pero *Candida albicans* es el agente implicado más frecuente en Candidiasis. Otras especies como *Candida guilliermondi*, *Candida krusei*, *Candida parapsilosis*, *Candida stellatoidea*, *Candida Tropicalis* y *Candida pseudotropicalis*. Toda la especie perteneciente al género *Candida* representa los patógenos más frecuentes, estos microorganismos colonizan la mucosa digestiva y pasan al torrente circulatorio a través de catéteres vasculares contaminadas, donde interacciona con las defensas de hospedador y abandona el compartimiento para invadir los tejidos más profundos como el hígado, bazo, riñón, corazón y el cerebro. Entre las características de los microorganismos que podrían contribuir a su potencial

patogénico se encuentra la capacidad de adhesión a los tejidos, dimorfismo, hidrofobicidad de su superficie celular, la secreción de proteinasas, cambio de fenotipo. El cambio de levadura a micelial, la cual se encuentra regulada por el pH y la temperatura.² La candidiasis superficial (cutánea o mucosa), se establece a consecuencia de un incremento en la población local de *Candida* y del daño a la piel o el epitelio, que permite la invasión local por levadura y pseudohifas. Después de la administración de antimicrobiano por vía oral, con frecuencia ocurre un gran incremento de la *Candida* en el intestino y puede penetrar a la circulación a través de la mucosa intestinal.³⁷ *Candida Albicans* produce: infección oral o muguet, esofagitis, candidiasis de mucosa gastrointestinal no esofágica, vulvovaginitis y balanitis.^{38, 39} En pacientes tratados con fluconazol frecuentemente se aísla *Candida glabrata* y *Candida krusei*, que son menos sensibles a este antifúngico.⁴⁰

2.5.1. Morfología

Todas las especies del género *Candida* se desarrollan como células levaduriformes ovaladas de 3 a 5 µm que forman yemas o blastoconidios a excepción de *Candida glabrata*, las especies de *Candida* producen también pseudohifas e hifas verdaderas. Por otra parte *Candida albicans* genera tubos germinales y claminoconidias terminales de pared gruesa. En condiciones *in vitro*, casi todas las especies dan colonias lisas de color blanco a crema, las especies pueden sufrir cambio de fenotipo, en el que de una colonia de morfología determinada pueden surgir otros tipos diferentes. Por ejemplo, a partir de una colonia lisa pueden aparecer otras rugosas, con forma de estrella, pilosas. Estos cambios fenotípicos se deben a fenómenos reversibles que ocurren con gran frecuencia, Se sospecha que refleja la capacidad de hongos para adaptarse a diferentes condiciones ambientales.^{2,3}

2.5.2 Epidemiología

Las especies del género *Candida* colonizan el ser humano y otros animales de sangre caliente, por lo que se encuentra tanto en las personas como en los ambientes naturales. El lugar primario de colonización es el tubo digestivo desde la cavidad bucal hasta el recto. También se desarrollan como comensales en la vagina y la uretra, la piel y bajo las uñas del pie y las manos. Se ha detectado la presencia de *Candida albicans*, el principal agente etiológico de enfermedad en el ser humano, en el aire, el agua y el suelo.² Se estima que entre un 25% y un 50% de las personas sanas porta microorganismos de *Candida* en la microflora

normal de la cavidad bucal; *Candida albicans* representaría entre el 70% y 80% de las cepas. Las tasas de portadores orales son significativamente mayores en la población pediátrica, los pacientes ingresados, los sujetos infectados con VIH, las personas con dentadura postiza, los diabéticos, los individuos sometidos a quimioterapia antineoplásica o antibioterapia y los niños.²³

2.5.3. *Candida albicans*

Cándida albicans es un saprofito normal de la mucosa oral, digestiva y genital femenino, animales. La mayoría de las infecciones por *Candida* son de origen endógeno, pero es posible su transmisión desde el ambiente hospitalario y de persona a persona. En la adhesión de *Candida* a distintas superficies juegan un papel primordial su membrana y sobre todo su pared. La membrana está constituida por doble capa de diversos fosfolípidos, la fosfatidilcolina y la fosfatidiletanolamina, contiene también esteroides (ergosterol y zimosterol), la membrana protege al citoplasma, regula la entrada y salida de solutos y facilita la síntesis de la pared celular. La pared celular proporciona rigidez y fuerza, y protege a la membrana celular de un shock osmótico, está compuesta en un 80 al 90% de hidratos de carbono y aproximadamente un 10% de proteínas y glucoproteínas (enzimas relacionadas con el crecimiento de la pared y proteínas estructurales); los polisacáridos de la pared celular pueden tener una estructura fibrilar y disponerse en múltiples capas o formar una matriz polisacárida amorfa. En la fase levaduriforme de *Candida albicans* se distingue tres capas en su pared, una capa externa constituida en un 80% por monoproteínas, una capa media de B (1,6) glucanos, y una capa interna con B (1,3) glucanos, manosa y quitina. La pared celular tiene importancia médica por constituir un potente antígeno.^{2, 3, 41, 42, 43}

2.6 Antifúngicos

Los fármacos antimicóticos son compuestos utilizados en el tratamiento de las infecciones causadas por hongos. En la actualidad existen un grupo relativamente reducido estos compuestos, sobre todo si se compara con el gran número de antibióticos. Los antifúngicos actuales ejercen su acción sobre componentes específicos de los hongos, algunos pueden presentar cierta toxicidad para los tejidos humanos. Los antifúngicos actúan diferentes niveles de la célula fúngica y se clasifican en familias según su mecanismo de acción: polienos, azoles, flucitocina, equinocandinas.^{2, 3}

2.6.1. Ketoconazol

Es un antifúngico imidazólico que posee actividad demostrada *in vitro* sobre *Candida*, *Cryptococcus*, *Aspergillus*, *Blastomyces*, *Coccidioides* e *Histoplasma*. Permanece en el cuerpo hasta por 30 horas. Con dosis 800-1200 mg/día inhibe la síntesis enzimática asociados a citocromo p450 en varios órganos por unirse a la protoporfirina. Antagoniza los efectos de la testosterona.⁴³ Interfiere con la síntesis fúngica del ergosterol, las membranas celulares de los hongos, así como ciertas enzimas. Al igual que con todos los agentes antifúngicos azólicos, ketoconazol inhibe la enzima citocromo p450 14- α -desmetilasa. Esta enzima participa en la biosíntesis de esterol vía que conduce de lanosterol a ergosterol. Las dosis más bajas de fluconazol y el itraconazol se requieren para matar hongos en comparación con ketoconazol, ya que se han encontrado para tener una mayor afinidad por las membranas celulares de los hongos. Por su eficacia en la reducción de los niveles de andrógenos sistémicos, ketoconazol se ha utilizado como un tratamiento para el cáncer de próstata andrógeno-dependiente. Es débilmente ácido. Se disuelve y se absorbe en medio ácido. Se distribuye ampliamente, aparece en el líquido de las articulaciones inflamadas, saliva, bilis, orina, grasa, cerumen, heces, tendones, piel y tejidos blandos. Atraviesa poco la barrera hematoencefálica y solo cantidades insignificantes alcanzan el líquido cefalorraquídeo. Atraviesa la barrera placentaria. Se metaboliza en el hígado por oxidación y degradación de los anillos de imidazol y piperazina, ortodesalquilación oxidativa e hidroxilación aromática a metabolitos inactivos. Se elimina por la bilis. Aproximadamente 13 % por los riñones, entre 2 a 4 % se encuentra en la orina como ketoconazol. También se excreta por la leche. Vida media plasmática: fase alfa: 1,4 a 3,3 horas durante las primeras 10 h; fase beta: 8 h después. Tiempo para la máxima concentración sérica: de 1 a 4 horas. Máxima concentración sérica: aproximadamente 3,5 $\mu\text{g/mL}$ seguidos de una simple dosis de 200 mg administrada con una comida.^{44, 45, 46, 47}

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Ubicación

Se realizó en los laboratorios de Microbiología y Bromatología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga, provincia de Huamanga, departamento de Ayacucho, en los meses de Abril a agosto del 2012.

3.2. Materiales

3.2.1. Población

Planta de *Bidens pilosa* L. "sillkau", del distrito de Carmen Alto, provincia de Huamanga, departamento de Ayacucho a 2 760 m.s.n.m.

3.2.2. Muestra

Cinco kg de hojas de *Bidens pilosa* L. "sillkau", las hojas en buenas condiciones, la identificación taxonómica fue emitida por la jefa del *Herbarium Huamangensis* de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga (anexo 1)

3.2.3. Microorganismo de ensayo

Candida albicans ATCC 10231 proporcionado por el laboratorio de Microbiología del Hospital Regional de Ayacucho.

3.3. Diseño metodológico para la recolección de datos

3.3.1. Recolección y procesamiento de la muestra

Se recolectó la muestra de *Bidens pilosa* "sillkau" L. en horas de la mañana, seleccionando las hojas en buenas condiciones. El lavado de las hojas se realizó con abundante agua. Luego fueron desecados bajo sombra y ventilación extendiéndolas sobre el papel kraft por dos semanas a temperatura ambiente. Las hojas deshidratadas fueron pulverizadas usando molino manual hasta

obtener un polvo. El polvo obtenido se pesó y guardó en tres envases de boca ancha de color ámbar para preservarlos de la luz y de la contaminación del medio.^{30, 49}

3.3.2. Obtención de los extractos etanólico, metanólico y acuoso

A 200 g de hojas pulverizada se le agregó un litro de alcohol de 96° y a 200 g de muestra pulverizada se le agregó un litro de metanol ambas en frascos de color ámbar, durante el proceso de maceración se agitó el frasco periódicamente dejando a temperatura ambiente durante siete días. El extracto obtenido fue filtrado a través de papel filtro Whatman n°4 y finalmente los solventes fueron evaporados en una estufa a una temperatura de 40°C.

Para el extracto acuoso se pesó 200 g de muestra seca y pulverizada y se agregó agua destilada estéril hasta cubrir la muestra y se llevó a ebullición durante 20 minutos. Luego se filtró y se llevó a concentrar en una estufa a una temperatura de 40°.⁴⁵ El extracto seco fue conservado en envases herméticos a temperatura ambiente hasta el momento de su uso.^{18, 33}

3.3.3 Preparación de la solución acuosa, etanólico y metanólico (solución stock)

Se pesó exactamente un gramo de la muestra seca del extracto acuoso y se disolvió con agua destilada estéril en una fiola de 10 ml así obteniendo una concentración de 100 mg/ml.

Se pesó exactamente un gramo de la muestra seca del extracto etanólico y se disolvió en etanol en una fiola de 10 mL así obteniendo una concentración 100 mg/ml.

Se pesó exactamente un gramo de la muestra seca del extracto metanólico y se disolvió en metanol en una fiola de 10 ml con una concentración de 100 mg/ml.

.A un gramo de ketoconazol, se agregó 10 ml de agua destilada estéril en una fiola de 10 ml, obteniéndose una concentración de 100 mg/ml.

3.3.4. Determinación de capacidad antifúngica

Según la técnica de Kirby-Bauer (perforación en agar). Esta técnica se basa en la inhibición del crecimiento fúngico, mediante la difusión de sustancias activas en un medio sólido, En aquella zona donde no hay crecimiento fúngico, aparece un halo de inhibición.⁴³

3.3.4.1. Reactivación de cepas de *Candida albicans* ATCC 10231

Se procedió a repicar las colonias de *Candida albicans* en agar Sabouraud, incubando a 37°C por 24 horas.

3.3.4.2. Preparación del inóculo de *Candida albicans*

Para la preparación del inóculo se procedió a seleccionar las colonias con asa estéril transfiriendo a un tubo de ensayo con 5 ml de agua destilada estéril y se ajustó la turbidez ópticamente similar al estándar de 0,5 de la escala de McFarland.

3.3.4.3. Preparación de placas Petri

- En cada placa Petri previamente esterilizada se vertió 20 ml de Agar Sabouraud, quedando con un espesor de 4 mm aproximadamente, luego se dejó solidificar a temperatura ambiente.
- Se introdujo un hisopo estéril en el tubo para sacar un inóculo de *Candida albicans*, exprimiendo el exceso de agua en la pared del tubo.
- Luego, con el mismo hisopo se hizo la técnica de diseminación en las placas con agar Sabouraud.
- Se hicieron cuatro pozos equidistantes en cada placa con la ayuda de un sacabocado de 8 mm de diámetro. En cada pozo se depositó diferentes concentraciones de 0,02; 0,04; 0,06 ml del extracto acuoso, etanólico y metanólico de hojas de *Bidens pilosa* y en el pozo sobrante se depositó agua, etanol, metanol como control negativo.
- Finalmente se incubaron a 37°C por 48 horas.
- La lectura se realizó después de 48 horas, midiendo el diámetro de halo de inhibición en mm. Luego se hizo las comparaciones con ketoconazol (6 mg/ml) como control positivo.

3.3.4. Determinación de la Concentración mínima inhibitoria (CMI)

- Para determinar la Concentración Mínima inhibitoria (CMI) se prepararon 11 tubos para cada extracto previamente esterilizado y rotulado del número 1 al 11.
- Desde el tubo n° 1 hasta tubo n° 11, se agregó 1 ml de cloruro de sodio al 0,9 por ciento.
- Posteriormente se agregó 1 ml del extracto acuoso (12 mg/ml de concentración) al tubo n° 1, a partir del cual se transfirió 1 ml al tubo n° 2 y así sucesivamente hasta el tubo n°10, del tubo n°10 se sustrajo 1 ml y se desechó. El tubo n° 11 no recibió el extracto, siendo este el control de crecimiento de hongos.
- Luego se agregó 0,1 ml del inóculo de *Candida albicans* ATCC 10231 del tubo n° 1 hasta el tubo n° 11.
- Los tubos se incubaron a 37°C por 24 horas.
- A las 24 horas se observó la presencia o ausencia de turbidez en los tubos.

-El tubo que no presentó turbidez indicó ausencia de crecimiento de los hongos, lo que se designó como la Concentración mínima inhibitoria (CMI).^{50, 51}

Tabla N° 1 Diluciones decreciente de extractos de hojas de *Bidens pilosa* L."Sillkau".

N° de tubo	Extracto acuoso (mg/ml)	Extracto etanólico(mg/ml)	Extracto metanólico (mg/ml)
1	6	6	6
2	3	3	3
3	1,5	1,5	1,5
4	0,75	0,75	0,75
5	0,375	0,375	0,375
6	0,188	0,188	0,188
7	0,094	0,094	0,094
8	0,047	0,047	0,047
9	0,023	0,023	0,023
10	0,012	0,012	0,012
11	Control	Control	Control

Fuente: Elaboración propia

3.3.5. Determinación de la Concentración Mínima Fungida (CMF)

Se tomaron los tubos que no presentó turbidez a simple vista, de cada uno de los tubos se sembró de 0,1 ml de solución en placas con agar sabouraud, luego fueron incubados a 37°C por 24 horas. El cuadrante que no presenta crecimiento de las colonias indicó Concentración Mínima Fungida.

3.4. Análisis Estadístico

Los resultados se procesaron en cuadros mediante el análisis de varianza (ANOVA) con un nivel de significancia de 95%

IV. RESULTADOS

Tabla 2. Diámetro de halos de inhibición (mm) del extracto acuoso de hojas de *Bidens pilosa* L "sillkau" sobre *Candida albicans* ATCC 10231 Ayacucho – 2012.

	Concentraciones de extracto acuoso de <i>Bidens pilosa</i> L "sillkau"			Ketoconazol
	2 mg/ml	4 mg/ml	6 mg/ml	6 mg/ml
	10	13	16	17
Diámetro de halos	10	14	16	17
de inhibición sobre	11	12	16	18
<i>Candida albicans</i> (mm)	10	12	15	18
	11	13	15	17
Promedio del halo de inhibición (mm)	10,2	12,9	15,3	17,4

Tabla 3. Diámetros de halos de inhibición (mm) del extracto etanólico de hojas de *Bidens pilosa* L "sillkau" frente *Candida albicans* ATCC 10231 Ayacucho 2012.

	Concentraciones de extracto etanólico de <i>Bidens pilosa</i> L "sillkau"			Ketoconazol
	2 mg/ml	4 mg/ml	6 mg/ml	6 mg/ml
Diámetro de halos de inhibición sobre <i>Candida albicans</i> (mm)	10	12	15	17
	9	12	15	17
	10	11	16	18
	10	12	14	18
	9	12	16	17
Promedio de halos de inhibición	9,6	11,8	15,2	17,4

Tabla 4: Diámetro de halos de inhibición (mm) del extracto metanólico de hojas de *Bidens pilosa* "sillkau" frente a *Candida albicans* ATCC 10231 Ayacucho 2012.

	Concentraciones de extracto metanólico de <i>Bidens pilosa</i> L "sillkau"			
	2 mg/ml	4 mg/ml	6 mg/ml	Ketoconazol 6 mg/ml
	9	11	14	17
Diámetro de halos	10	12	14	17
de inhibición sobre	10	11	14	18
<i>Candida albicans</i> (mm)	9	12	15	18
	9	11	14	17
Promedio del halo de inhibición (mm)	9,4	11,4	14,2	17.4

Tabla 5. Concentración mínima inhibitoria de los extractos de hojas de *Bidens pilosa* "sillkau". Ayacucho-2012.

N° de tubo	E. acuoso (mg/ml)	Turbidez	E. etanólico	Turbidez	E. metanólico	Turbidez
1	6	no	6	no	6	no
2	3	no	3	no	3	no
3	1,5	no	1,5	no	1,5	no
4	0,75	no	0,75	no	0,75	no
5	0,375	no	0,375	no	0,375	si
6	0,188	si	0,188	si	0,188	si
7	0,094	si	0,094	si	0,094	si
8	0,047	si	0,047	si	0,047	si
9	0,023	si	0,023	si	0,023	si
10	0,012	si	0,012	si	0,012	si
11	Control	si	Control	si	Control	si

Leyenda:

SI: presencia de turbidez
 NO: ausencia de turbidez

Tabla 6. Concentración mínima fungicida de los extractos de hojas de *Bidens pilosa* "sillkau". Ayacucho-2012.

N° de tubo	E. acuoso (mg/ml)		E. etanólico		E. metanólico	
1	6	S	6	S	6	S
2	3	S	3	s	3	S
3	1,5	S	1,5	s	1,5	S(CMF)
4	0,75	S(CMF)	0,75	S(CMF)	0,75	R(CMI)
5	0,375	R(CMI)	0,375	R(CMI)	0,375	R
6	0,188	R	0,188	R	0,188	R
7	0,094	R	0,094	R	0,094	R
8	0,047	R	0,047	R	0,047	R
9	0,023	R	0,023	R	0,023	R
10	0,012	R	0,012	R	0,012	R
11	Control	R	Control	R	Control	R

Leyenda:

R: Resistente

S: Sensible

CMI: Concentración Mínima Inhibitoria

CMF: Concentración Mínima Fungicida

V DISCUSIÓN

La planta *Bidens pilosa* L. "sillkau" tiene varias propiedades curativas según la medicina popular. Las hojas en infusión y cocido se mastican para las anginas, en la amigdalitis catarral, para las aftas bucales, infecciones renales, úlceras gastroduodenales, como cataplasma sobre heridas y tumores, para infecciones abdominales y cólicos (enemas). como menciona Borges.²² Así también, Lastra y Ponce de León mencionan que las flores, hojas y raíces son usadas como antiodontálgicas²¹. También las flores se utilizan como antidiarreico y la raíz para el dolor de oído. Las semillas tostadas para incisiones externas y el zumo de la planta entera como antídoto en casos de envenenamiento, también se utiliza como un estimulante débil de la musculatura lisa del útero, tranquilizante, hemostática, emoliente,⁹ antitusiva, antipirética, antiséptica para la irritación de la piel y lavados vaginales, para dolores osteoarticulares, haciéndose aplicación tópica,¹⁰ diurética, ⁸ antibiótica, ⁶ antifúngica.²¹

La tabla 2 nos muestra los diámetros de los halos de inhibición de tres concentraciones (2 mg/ml, 4 mg/ml y 6 mg/ml) del extracto acuoso de hojas de *Bidens pilosa* L. "sillkau", todas las concentraciones presentan halos de inhibición significativa. Se puede apreciar actividad antifúngica sobre *Candida albicans*, la de menor concentración, 2 mg/ml, tiene como promedio 10,2 mm de halo, mientras que la de 4 mg/ml tiene 12,9 mm de halo, la concentración de 6 mg/ml presenta un halo de inhibición de 15,3 mm se aproxima al estándar ketoconazol que tiene 17,4 mm de halo. La planta *Bidens pilosa* L. posee aceites esenciales, fitoesteroles, taninos tipo catecol, polisacáridos, flavonoides, aminas, mucílagos, terpenos, compuestos poliacetilenicos, glucósidos, friedelina, como menciona

Waizel y Martínez.¹⁹

Así, Deba y col mencionan sobre el análisis farmacognóstico que *Bidens pilosa* L. presenta: azúcares reductores, mucilagos, pectinas, taninos, compuestos fenólicos, flavónicos, esteroides, lactonas sesquiterpénicas y aceites esenciales.¹⁷ Meneses al realizar la evaluación de los componentes fitoquímico de tallos y hojas de *Bidens pilosa* L. "sillkau", demostró la presencia de: alcaloides, glucósidos, taninos, cumarinas y flavonoides, Como menciona Lock, los compuestos flavonicos, taninos y cumarinas poseen propiedades antifúngicos y antibacterianas los que para *Bidens pilosa* L. serían los responsables de de dicha actividad.³⁰

La tabla 3 nos muestra los diámetros de halos de inhibición a diferentes concentraciones del extracto etanólico de hojas de *Bidens pilosa* L frente a cepas de *Candida albicans*. Podemos ver que estos resultados contradicen lo obtenido por Huamaní y Ruiz¹¹ que en su evaluación del extracto etanólico de *Bidens pilosa* L concluyen que dicha planta no posee actividad antifúngica frente a cepas de *Candida albicans* pese a que lo hicieron a una mayor concentración del extracto. Una observación de este contraste es la procedencia de la planta pues Huamaní investigó *Bidens pilosa* L. procedente de amazonas, considerando que las condiciones geográficas, clima, humedad, altitud, composición del suelo, son factores que influyen en la riqueza de los principios activos de la planta, a decir de Lock,³⁰ nuestra planta es procedente de la localidad de Ayacucho zona que se caracteriza por abundante lluvia y además calor casi todo el año. Por otro lado, Lastra menciona que para el extracto etanólico al 95 % y extracto de acetona no presentó actividad antifúngica contra *Candida albicans*. El resultado del extracto etanólico muestra que los compuestos extraídos poseen actividad antifúngica y que además de poseer fenoles, cumarinas, alcaloides, aceites esenciales, también posee taninos que al igual del extracto acuoso sería responsable de la actividad antifúngica. Los valores promedio de los halos de inhibición de tres concentraciones del extracto etanólico de *Bidens pilosa* L. sobre *Candida albicans* muestra claramente que a las concentraciones de 2 mg/ml, 4

mg/ml y 6 mg/ml; todas poseen capacidad antifúngica positivo presentando halos de inhibición de 9,6 mm, 11,8 mm, 15.2 mm respectivamente, pero esta última concentración es menor aun comparado con el estándar que presenta 17,4 mm de halo de inhibición como promedio.

En la Tabla 4 podemos apreciar los resultados de diámetros de halos de inhibición del extracto metanólico de hojas de *Bidens pilosa* L. frente a *Candida albicans* ATCC 10231, las tres concentraciones presentan capacidad antifúngico. Lastra menciona que los extractos clorofórmicos, metanólico y en éter de petróleo de *Bidens pilosa* L. tiene actividad contra levaduras de *Candida albicans*.⁹ Así, el promedio de los halos de inhibición de las tres concentraciones de 2 mg/ml, 4 mg/ml y 6 mg/ml de extracto metanólico frente a *Candida albicans* muestra los halos de 9,4 mm, 11,4 mm, 14,4 mm respectivamente. Los flavonoides, compuestos fenólicos y taninos se hallan en mayor concentración en el extracto metanólico de *Bidens pilosa* L.²⁷ Este hongo es dimórfico que forma parte de la microflora normal de las mucosas oral, vaginal y de la piel. Sin embargo, ocasiona enfermedades cuando existen factores predisponentes como la disminución de mecanismo inmunológico, alteraciones de barreras favoreciendo la invasión micótica etc.^{2,42} para el caso del extracto metanólico las tres concentraciones presentan efecto antifúngico frente a *Candida albicans* La Concentración mínima inhibitoria (CMI) de los tres extractos sobre *Candida* se puede apreciar en la tabla 5 al aumentar la concentración del extracto el crecimiento de *Candida albicans* disminuye, demostrando un relación inversamente proporcional. Se determinó que la CMI para los extractos etanólico y acuoso fue de 0,375 mg/ml y para el metanólico fue 0,75 mg/ml. Así mismo, en la tabla 6 se puede apreciar la Concentración mínima fungicida (CMF) de los tres extractos contra *Candida albicans*. La lectura de Concentración mínima fungicida para el extracto etanólico y acuoso de hojas de *Bidens pilosa* L. "sillkau" fue 0,75 mg/ml, y para el extracto metanólico fue 1,5 mg/ml. Estos resultados nos indica que los tres extractos pueden aprovecharse para tratar enfermedades con infecciones de *Candida albicans*.

VI CONCLUSIONES

1. Los extractos acuoso, etanólico y metanólico de hojas de *Bidens pilosa* L. "sillkau" tiene capacidad antifúngica frente a *Cándida albicans* ATCC 10231.
2. La Concentración mínima inhibitoria (CMI) de los extractos acuosos, etanólico de hojas de *Bidens pilosa* L. "sillkau" frente a *Cándida albicans*, dio como resultado 0,375 mg/ml; para el extracto metanólico fue 0,75 mg/ml.
3. La Concentración mínima fungicida (CMF) de los extractos acuoso y etanólico de hojas de *Bidens pilosa* L. "sillkau" frente a *Candida albicans* fue 0,75 mg/ml y para el extracto metanólico fue 1,5 mg/ml.

RECOMENDACIONES

- Continuar con investigaciones farmacológicas de la planta *Bidens pilosa* L. "sillkau" frente a otras cepas de hongos y bacterias patógenos.
- Realizar estudios con extracto acuoso, etanólico y metanólico de la planta *Bidens pilosa* L., tomando muestras de diferentes regiones y en diferentes estaciones del año.
- Continuar estudios de factibilidad de formulación y elaboración de cremas y soluciones tópicas a base del extracto acuoso, etanólico y metanólico de la planta *Bidens pilosa* L. "sillkau".

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Marca R. Actividad antimicótica “*in vitro*” del aceite esencial *Cinnamomum zeylanicum* Breyn “canela” frente a *Candida albicans* ATCC 6538, Tacna, 2012 [Tesis-UNJBG]. Tacna. Facultad de Ciencias de la Salud Escuela Académico Profesional de Farmacia y Bioquímica.2013.URL:tesis.unjbg.edu.pe:8080/.../87_2013_Marca_Cuello_MR_FACS_Farmac.
2. Murray P, Rosenthal K, Microbiología Medica, 5ta edición España: Editorial Elsevier.2006.
3. Liébana J. Microbiología oral. 2da ed. España. Editorial Mac Grawn Hill. 2002 pg 222, 223,224.
4. Falabella R, Chaparro J, Barona M, Domínguez L. Dermatología, 7ma ed. Colombia Ed. Corporación para investigación biológica. 2010
5. Muñoz E, Angulo I, Chávez M, Luján M, Wilson J y Alayo G. Aislamiento de *Candida albicans* de mujeres con candidiasis vaginal atendidas en el Hospital Regional Docente de Trujillo-Perú, 2012.Revista Científica de la Facultad de Ciencias Biológicas Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo. Perú 1,32 Enero-Junio, 2012, [internet] [citado 2014 agosto 2] 42-103.Disponible en: www.facbio.unitru.edu.pe/index.php?option=com_docman
6. Mejia K, Rengifo E. Plantas medicinales de uso popular en la amazonia paruana, 2da ed Editorial Agencia española de cooperación internacional. [revista en internet] 2000 [citado 2013 julio10]. Disponible en: www.iiap.org.pe/Upload/Publicación/L017.pdf
7. Meneses R. Marcha fitoquímica y evaluación de la actividad cicatrizante de tallos y hojas de *Bidens pilosa* L “sillkau” [Tesis UNSCH]. Ayacucho. Facultad de Ciencias Biológicas. 2001
8. Gonzales V. Actividad diurética del extracto atomizado de *Bidens pilosa* L “sillkau” en cobayos. [Tesis UNSCH]. Ayacucho. Facultad de Ciencias Biológicas. 2003.
9. Arlene P. Bartolome I, Villaseñor T, Wen-Chin Yang, “*Bidens pilosa* L. (Asteraceae): Botanical Properties, Traditional Uses, Phytochemistry, and Pharmacology,” Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, vol. 2013, [internet] 2013.[citado 2013 enero 2]. Disponible en: dx.doi.org/10.1155/2013/340215
10. Rojas J, Ochoa V, Ocampo S, Muñoz J. Screening for antimicrobial activity of ten medicinal plants used in Colombian folkloric medicine: A possible alternative in the treatment of non-nosocomial infections.Complementary and Alternative MedicineDepartment of Pharmacy, Universidad de Antioquia, Colombia. [citado 2013 enero 2].Disponible en: http://www.biomedcentral.com/1472-6882/6/2
11. Huamaní M. y Ruiz J. Actividad antifúngica contra *Candida albicans* y *Aspergillus niger* de 10 plantas medicinales de tres departamentos del Perú [Tesis UNMSM]. Lima. Facultad de Farmacia y Bioquímica. 2005.
12. Ruiz J. Actividad Antifungica *in vitro* y Concentración Mínima Inhibitoria mediante Microdilución de ocho plantas medicinales [Tesis de maestría]. Lima - Perú: Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Unidad de Post-Grado; 2013.
13. Cano C, Bonilla P, Roque M, Ruiz J. Actividad antimicótica in vitro y metabolitos del aceite esencial de las hojas de *Minthostachys Mollis* (muña). Rev. perú. med. exp. salud pública, Lima, v. 25, n. 3, jul. 2008. [revista en internet], [acceso 6 de agosto de 2014].Disponible en <http://www.scielo.org.pe/pdf/rins/v25n3/a08v25n3
14. Pardo A, Arenas J, Gómez M, Lora F M, Gómez J E. Determinación de la actividad antifúngica de extractos de *Lantana camara* frente a *Candida* spp.

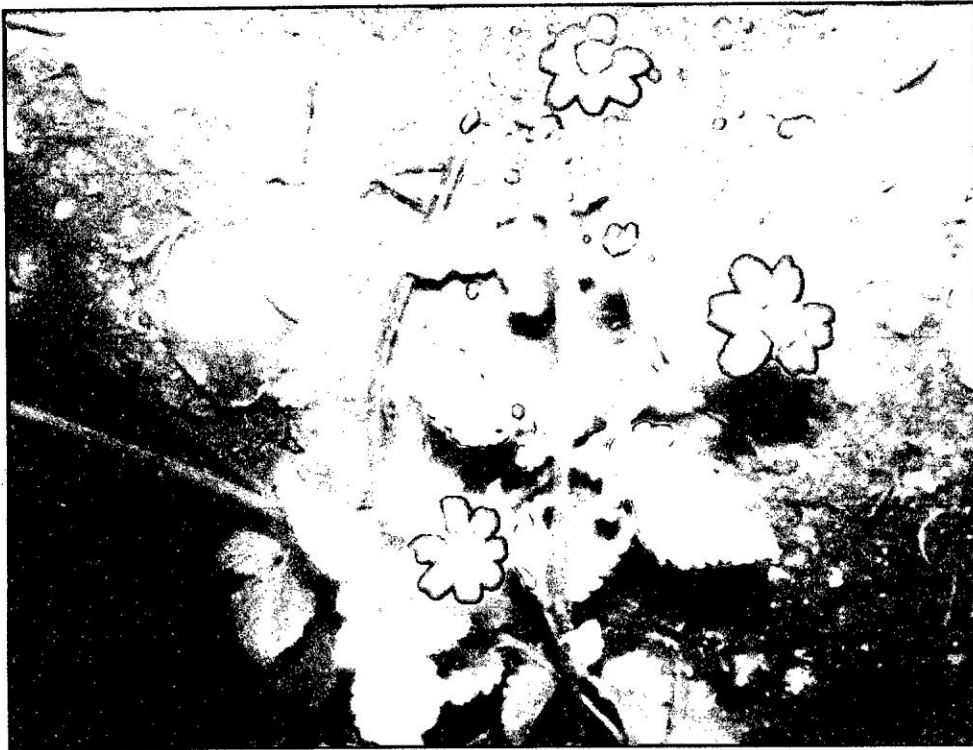
- Infect. [Internet]. 2011 Dec [cited 2014 Aug 14]; 15(4): 235-242. Disponible en: http://www.Scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-9392-2011000400005&lng=en.
15. Lora C, Luján M, Robles H, Saravia, V, Cabeza J. Efecto *in vitro* de diferentes concentraciones de *Allium sativum* "ajo" frente a dermatofitos y *Candida albicans*. UCV - Scientia. [Internet]. 2010, vol.2, no.2 [citado 14 Agosto 2014], p.23-33. Disponible en: la World Wide Web: <http://revistas.concytec.gob.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2077-172X2010000200003&lng=es&nrm=iso>.ISSN 2077-172X
 16. Davicino R, Mattar M, Casali Y, Correa S, Pettenati E, Micalizz B. Actividad antifúngica de extractos de plantas usadas en medicina popular en Argentina. Rev. peru. Biol [revista en internet] 2007 [acceso 9 de noviembre de 2013]; 14(2): 247-251. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rpb/v14n2/a11v14n02.pdf>
 17. Deba Dang Xuan, Masaaki Yasuda, Shinkichi Tawata. Chemical composition and antioxidant, antibacterial and antifungal activities of the essential oils from *Bidens pilosa* Linn var *Radiata*. [internet] [citado enero 29, 2013]. Disponible en: 193.146.160.29/gtb/sod/.../10311122_Deba.pdf
 18. Cruz A, Rodríguez N, Rodríguez C. Evaluación *in vitro* del efecto antibacteriano de los extractos de *Bidens pilosa*, *Lantana cámara*, *Schinus molle* y *Silybum marianum*. Rev. U.D.CA Act. & Div. Cient. [revista en internet] 2010 [acceso 9 de noviembre de 2013];13(1):117-124. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/rudca/v13n2/v13n2a14.pdf>
 19. Waizel-bucay j y martinez. Plantas empleadas en odontalgias. Medigraphic Artemisa. Vol. LXIV, No. 5 Septiembre-Octubre 2007 [internet], pp 173-186. [citado 2012 mayo 22]. Disponible en: www.medigraphic.com/pdfs/adm/od-2007/od075b.pdf
 20. Gorriti A, Zárate R, Jurado B. Bioensayos en especies de *Bidens* con actividad terapéutica Ciencia e Investigación: Vol. 1 N° 2 - Diciembre 1998 [internet], [citado 2012 Sep 23]. Disponible en: revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/farma/article/view/4413
 21. Lastra Valdés Humberto A, Ponce de León Rego Heidy. *Bidens pilosa* Linné. Rev Cubana Plant Med [revista en la Internet]. 2001 Abr [citado 2014 Dic 08]; 6(1): 28-33. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962001000100007&lng=es
 22. Borges C.C., Matos T. F., Moreira J., Rossato A.E., Zanette V. C., Amaral P. A. *Bidens pilosa* L. (Asteraceae): traditional use in a community of southern Brazil. Rev. bras. plantas med. [Internet]. 2013 [cited 2014 Dec 08]; 15(1): 34-40. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-0572-2013000100004&lng=en. <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-05722013000100004>
 23. Romero M, Magallanes C, De La Cruz J, Villegas. Evaluación de plantas medicinales con propiedades antioxidantes, en los distritos de Ayacucho, Carmen Alto, de la provincia de Huamanga- Ayacucho.2006
 24. Cordero, K. Estudio fitoquímico y su utilización en medicina tradicional de *Bidens pilosa* L "sillkau" [Tesis-UNSCH]. Ayacucho. Facultad de Ciencias Biológicas.1991.
 25. Arroyo J., Bonilla P., Ráez E., Suárez S., Palomino R., Terán S., Villarreal, A., Marin M., Chenguayén J., Justil H. Compuestos fenólicos de la fracción metanólica de *Bidens pilosa*, sobre la neoplasia gástrica, inducida en ratas. Anales de la Facultad de Medicina, Norteamérica, 68, feb. 2013. [Internet], [Fecha de acceso: 16 Sep. 2013]. Disponible en: <<http://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/anales/article/view/1220>>.

26. Arroyo, J., Bonilla, P., ORé, R., Ráez, E., Marin, M., Valencia, J., Justil, H., Martínez, J., Palomino, C. Estudio morfohistológico y efecto quimioprotector de las hojas de *Bidens pilosa* L. sobre el cáncer de colon inducido en ratas. *Anales de la Facultad de Medicina, Norteamérica*, 69, feb. 2013 [internet], [Fecha de acceso: 16 Sep. 2013]. Disponible en: <<http://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/anales/article/view/1146>>.
27. Arroyo J, Bonilla P, Ráez E, Barreda A, Huamán O. Efecto quimioprotector de *Bidens pilosa* L en el cáncer de mama inducido en ratas. de la Facultad de Medicina, *Norteamérica*, 71, mayo. 2011. [revista en internet], [Fecha de acceso: 16 Sep. 2013]. Disponible en: <<http://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/anales/article/view/88>>.
28. Parimalakrishnan S, Akalanka D Anton S, Arul G, Manavalan R, SridharNatarajan Studies of anticancer and antipyretic activity of *Bidens pilosa* whole plant. *Afr Health Sci. Makerere Medical School. Uganda*. 2006 March; 6(1): 27–30. [Revista en internet], [accedido 16 Sep. 2013]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1831956/>.
29. Yi Jou H, Tsu-Han L, Lee Tian C, Yuh Tin H, Wen Chin Y. Hyperglycemic effects and mechanism of *Bidens pilosa* water extract. *Ethnopharmacol*. 2009 Mar 18; 122(2):379–83. doi: 10.1016/j.jep.2008.12.027. Epub [internet] 2008 [citado 2013 julio 13]. Disponible en: www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19162158.
30. Lock O. (1994) Investigación Fitoquímica: Métodos en el estudio de los productos naturales. 2da ed. Edición, Editorial Fondo de la Universidad Pontificia Católica del Perú; 1994.
31. Martínez S, Gonzáles J, Culebra J, Muñón J. Los Flavonoides: Propiedades y acciones antioxidantes. *Nutr. Hosp.* 2002, vol. 6, [internet], [citado 04 de agosto 2009] p.271 -278. Disponible en <<http://www.nutricionhospitalaria.com/mostrarse.asp?ID=3338>>.
32. Domingo D. Plantas con actividad antimicrobiana *rev española* 16(4) 385-393 [internet], [citado 14 Agosto 2014], p 385. Disponible en: www.seq.es/seq/0214-3429/16/4/385.pdf
33. Kuklinski C. Farmacognosia estudio de las drogas y sustancias medicamentosas. Barcelona: Omega. 2000.
34. Dorland Diccionario medico de bolsillo ed 29 ava Mc Graw-Hill interamericana de España 2010.
35. Sánchez I, Galarza C, Mattos R, Infecciones micóticas subcutáneas *Dermatología Peruana* 2009, Vol 19(4) [internet], [citado 14 Agosto 2014], Disponible en: http://sisbibunmsm.edu.pe/bvrevistas/dermatologia/v19_n4/pdf/a11v19n4.pdf
36. Giusiano G. Micosis oportunistas Cátedra de Microbiología, Parasitología e Inmunología [internet], [citado 14 Agosto 2014], Disponible en <http://ecaths1.s3.amazonaws.com/catmicromed/apunte%20Micosis%20oportunistas.pdf>
37. Brooks G, Butel J, Morse S. Microbiología Médica de Jawetz, Melnick y Adelberg. 17ava ed. México: El Manual Moderno; 2002.
38. Gowa, Van de Veerdonk F, Brown J, Netea G. *Candida albicans* Morphogenesis and host defence: discriminating invasion from colonization. *Nat Rev Microbiol*. 2011; 10(2):112-22. [internet], [citado 14 Agosto 2014], Disponible en [citado 10 marzo 2014] Disponible en: www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3624162.
39. Cannon, Richard D., et al. Efflux-mediated antifungal drug resistance. *Clinical microbiology reviews*, 2009, vol. 22, no 2, p. 291-321 [internet], [citado 14

- Agosto 2014], Disponible en:[citado 05 marzo 2013]. Disponible en:mic.sgmjournals.org/content/153/10/3211.full
40. Silva S, Negri M, Henriques M, Oliveira R, Williams D, Azeredo J. *Candida glabrata, Candida parapsilosis and Candida tropicalis*: biology, epidemiology, pathogenicity and antifungal resistance. *FEMS Microbiologia Rev.* 2012; 36(2):288-305. [internet], [citado 14 Agosto 2014], [citado 05 marzo 2013], Disponible en:www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21569057
 41. Ferrera. Principios de la Medicina Interna. México: Editorial Nueva Interamericana S.A. 1991.
 42. Madigan M. Biología de los microorganismos. Ed 10ma. España: edit. Prentice Hall. 2003.
 43. Koneman E. Diagnostico Microbiológico. 6ª Edición, Español Ed.Editorial Médica. Panamericana. 2008.
 44. Flores j. Farmacología. 3ra edición. Barcelona España: Edim C.C.L.1998.
 45. Godman y Gilman. Bases farmacológicas de la terapéutica. 11 ava ed, España, Edit Mc Graw Hill interamericana 2006.
 46. Velasquez. Farmacología básica y clínica, 16 ava. España Ed. Edit Medica Panamericana, 1996.
 47. Katzun. Farmacología básica y clínica España, 12 ava, España Ed.editorial Mc Graw Hill, 2013.
 48. Villar del Fresno A. Farmacognosia General. 1era ed. España: Síntesis S.A.; 1999.
 49. Aguilar E. Guía de prácticas de farmacognosia UNSCH. 2005
 50. García P. Guía de prácticas de biotecnología. UNSCH. 2006
 51. Mendo M. Manual de laboratorio medio de cultivo en microbiología.6ta ed. Perú. Editorial Ebisa, 2014.

ANEXOS

Anexo 1. Planta *Bidens pilosa* L. "sillkau". Ayacucho-2012.



Anexo 2. Certificado de identificación taxonómica de *Bidens pilosa* L. "sillkau".



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. **Marina, GONZÁLES GUTIÉRREZ**, 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 (1 988) , y es como sigue

DIVISIÓN	:	MAGNOLIOPHYTA
CLASE	:	MAGNOLIOPSIDA
SUB CLASE	:	ASTERIDAE
ORDEN	:	ASTERALES
FAMILIA	:	ASTERACEAE
GENERO	:	<i>Bidens</i>
ESPECIE	:	<i>Bidens pilosa</i> L.
N.V.	:	"sillkau" , "amor seco"

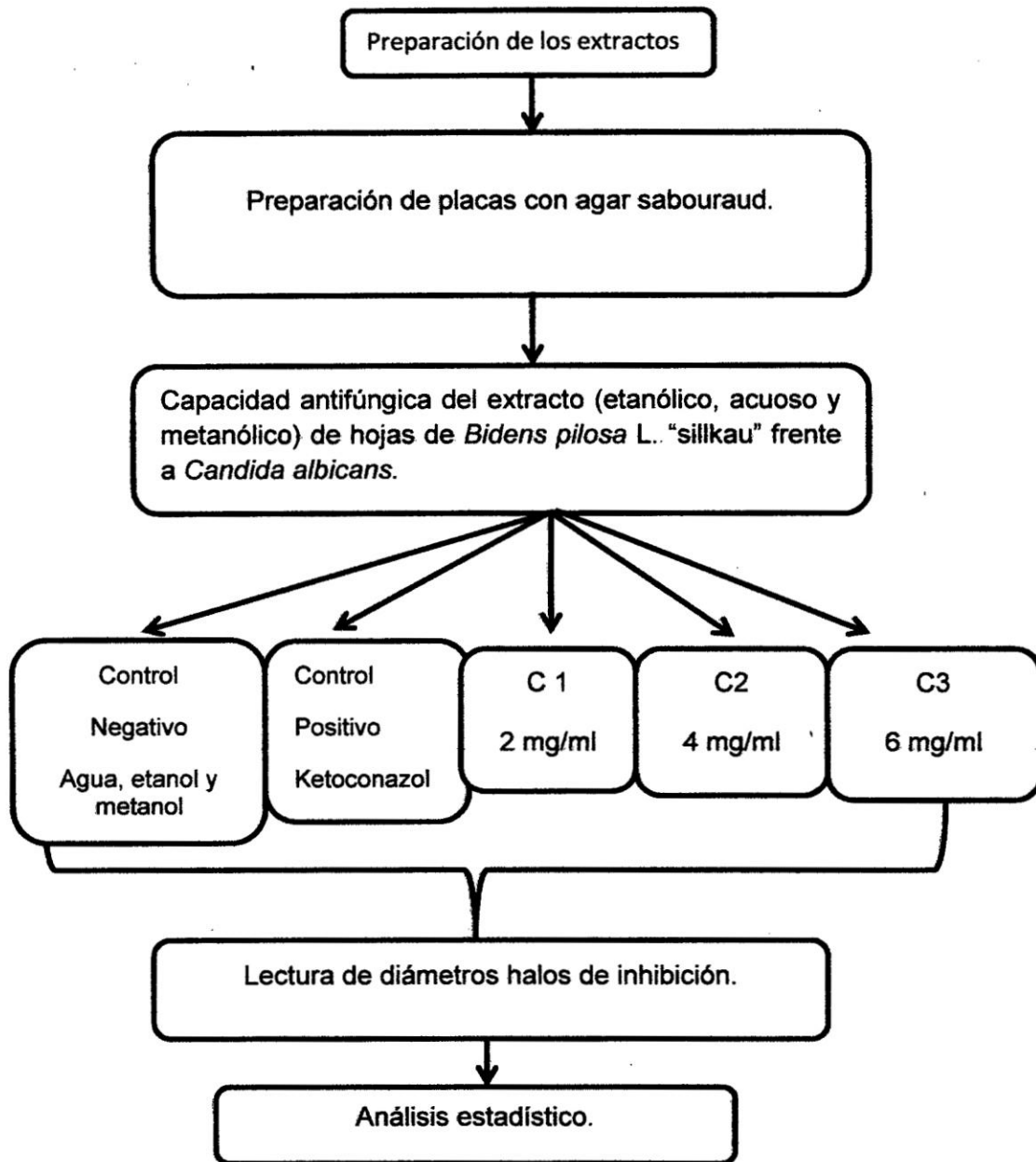
Se expide la certificación correspondiente a solicitud de la interesada para los fines que estime conveniente

Ayacucho, 24 de Abril del 2 012.

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

JEFE

ANEXO 3. Diagrama de flujo de metodología.



Anexo 4. Tabla 7. Análisis de varianza de halos de inhibición del extracto acuoso de hojas de *Bidens pilosa* L. "siilkau" Ayacucho 2012.

Halos de inhibición	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	142,55	3	47,517	118,792	000
Intra-grupos	6,4	16	0,4		
Total	148,95	19			

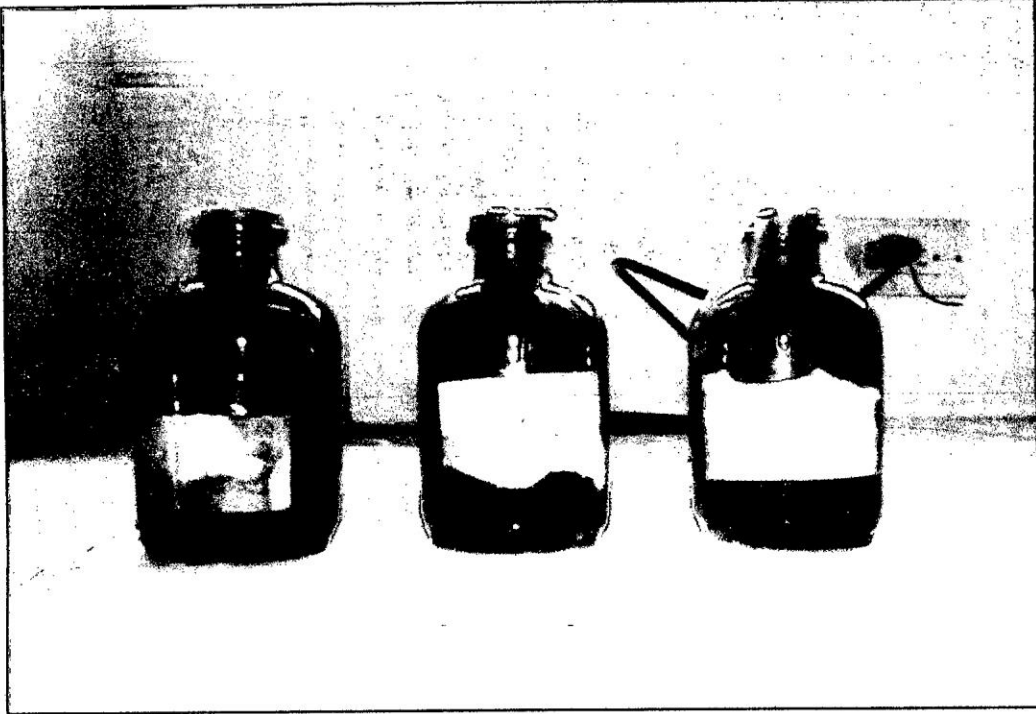
Anexo 5. Tabla 6. Análisis de varianza de halos de inhibición del extracto etanólico de hojas de *Bidens pilosa* L. "sillkau" Ayacucho 2012.

Halos de inhibición	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	181	3	60,333	160,889	0.000
Intra-grupos	6	16	0,375		
Total	187	19			

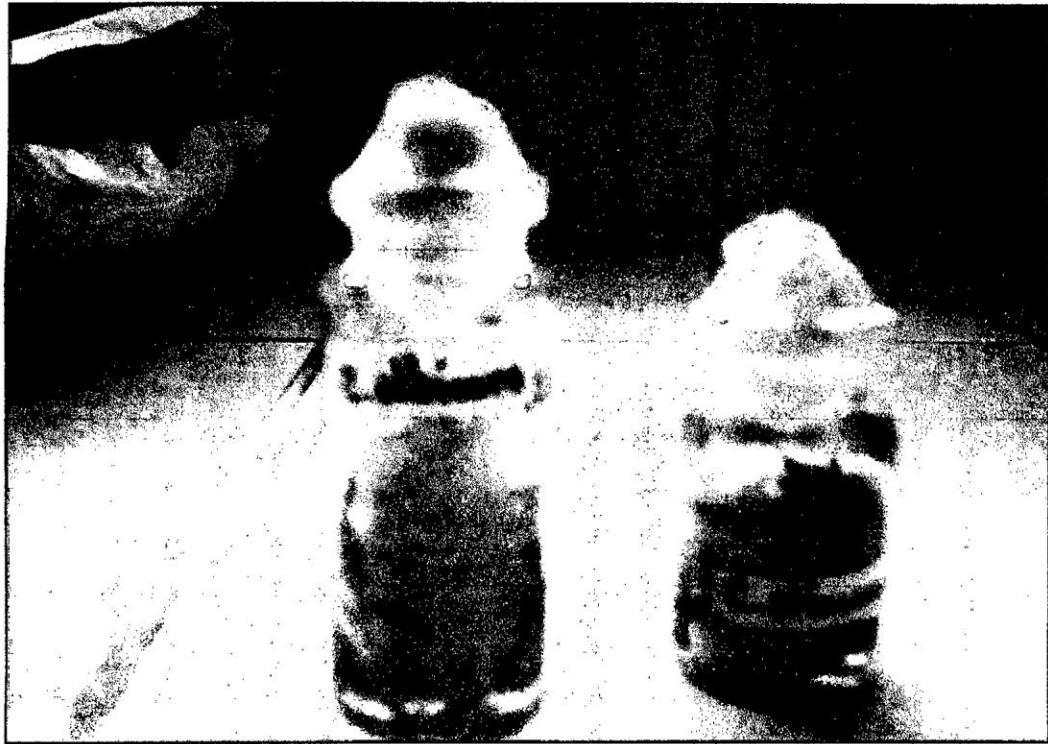
Anexo 6. Tabla 9. Análisis de varianza de halos de inhibición del extracto metanólico de hojas de *Bidens pilosa* L. "sillkau" Ayacucho 2012.

Halos de inhibición	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	181,4	3	60,467	219,879	0.000
Intra-grupos	4,4	16	0,275		
Total	185,8	19			

Anexo 7: Extracto acuoso, etanólico y metanólico de hojas de *Bidens pilosa* L. :
"sillkau" a. (100 mg/ml). Ayacucho-2012.

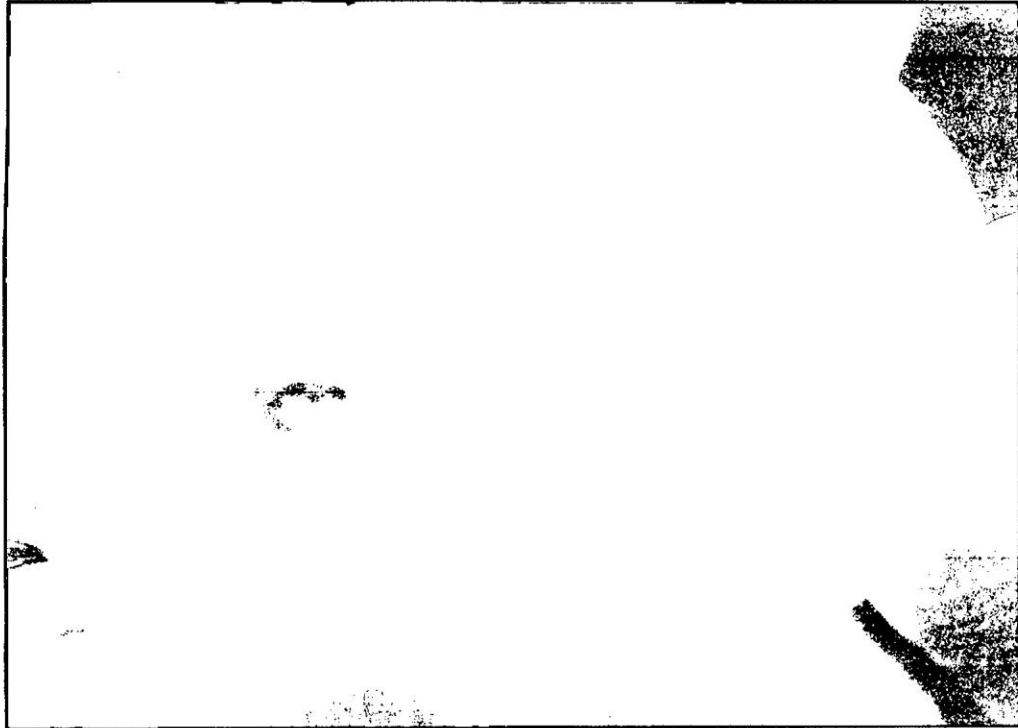


Anexo 8. *Candida albicans* ATCC 10231 Ayacucho-2012.





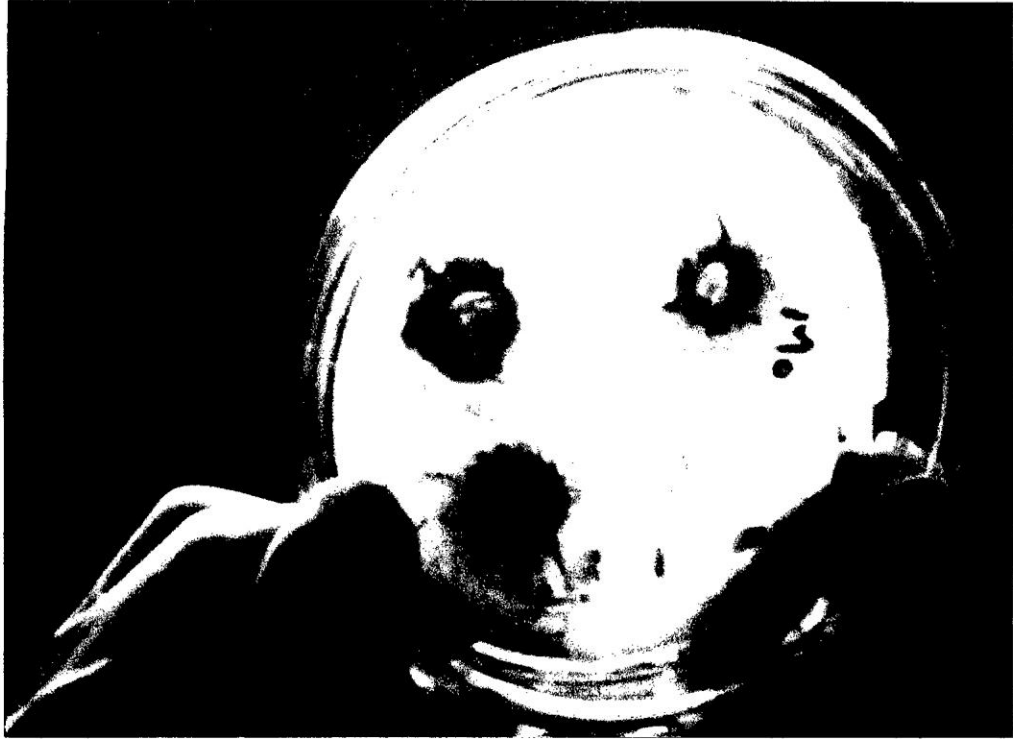
Anexo 10. Halo de inhibición del extracto acuoso de hojas de *Bidens pilosa* L.
"sillkau" después de 48 horas. Ayacucho-2012.



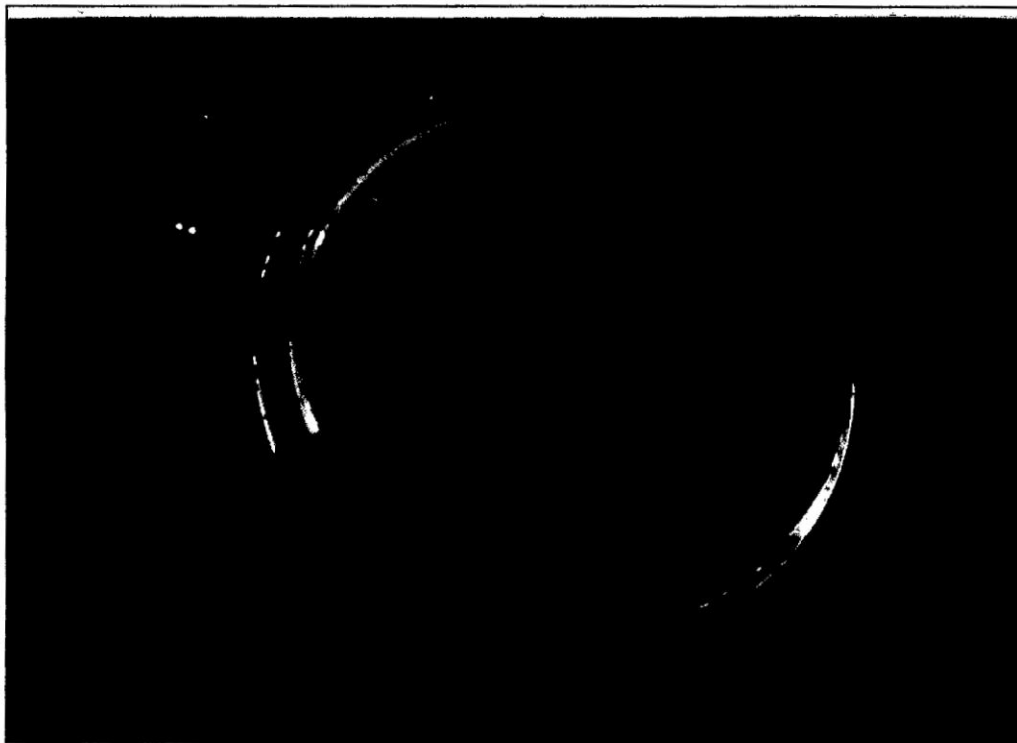
Anexo 11. Halo de inhibición del extracto etanólico de hojas de *Bidens pilosa* L. "sillkau" después de 48 horas. Ayacucho-2012.



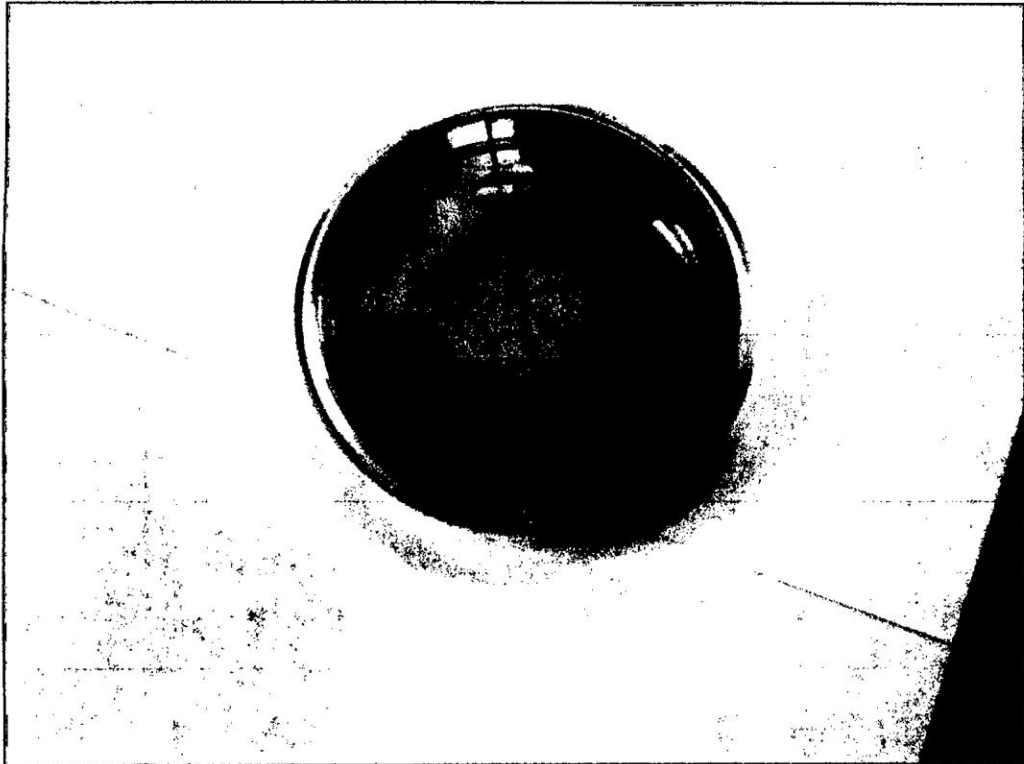
Anexo 12. Halo de inhibición del extracto metanólico de hojas de *Bidens pilosa* L. "sillkau" después de 48 horas. Ayacucho-2012.



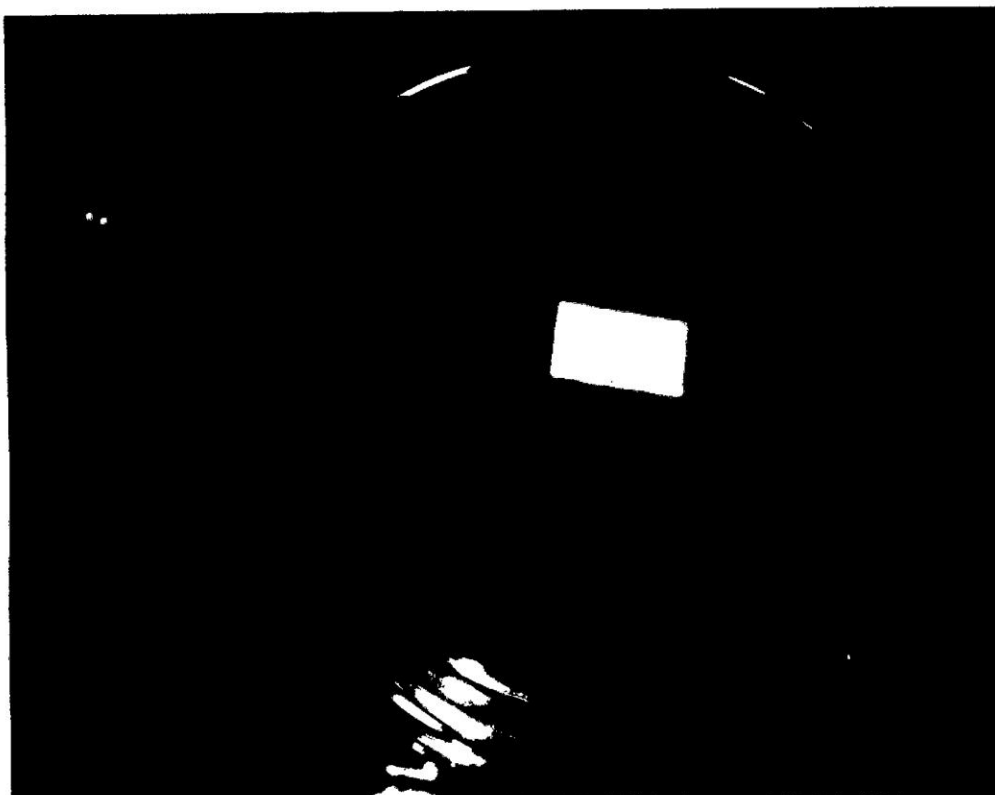
Anexo 13. Concentración mínima fungicida (CMF) del extracto acuoso de hojas de *Bidens pilosa* L. "sillkau" después de 24 horas. Ayacucho-2012.



Anexo 14. Concentración mínima fungicida (CMF) del extracto etanólico de *Bidens pilosa* L. "sillkau" después de 24 horas. Ayacucho-2012.



Anexo 15. Concentración mínima fungicida (CMF) del extracto metanólico de hojas de *Bidens pilosa* L. "sillkau" después de 24 horas. Ayacucho-2012.



Anexo 16. Matriz de consistencia

Capacidad antifúngica del extracto de hojas de *Bidens pilosa* "sillkau" frente a *Cándida albicans*. Ayacucho. 2012

Nombre: Marina Gonzales Gutiérrez

TITULO	PROBLEMA	OBJETIVOS	MARCO TEÓRICO	VARIABLES	HIPÓTESIS	METODOLOGÍA
Capacidad antifúngica del extracto de hojas de <i>Bidens pilosa</i> "sillkau" frente a <i>Cándida albicans</i> . Ayacucho. 2012	¿Poseerá actividad antifúngica el extracto acuoso, etanólico y metanólico de hojas de <i>Bidens pilosa</i> "sillkau" sobre <i>Cándida albicans</i> ?	<p>OBJETIVO GENERAL Evaluar la capacidad antifúngica de los extractos acuoso, etanólico y metanólico de hojas de <i>Bidens pilosa</i> L "sillkau" frente a <i>Cándida albicans</i>.</p> <p>OBJETIVOS ESPECÍFICOS Determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) de los extractos acuoso, etanólico y metanólico de hojas de <i>Bidens pilosa</i> L "sillkau" frente a <i>Cándida albicans</i>. Determinar la concentración mínima fungicida (CMF) de los extractos acuoso, etanólico y metanólico de hojas de <i>Bidens pilosa</i> L "sillkau" frente a <i>Cándida albicans</i>.</p>	<p>Al evaluar la composición química, la actividad antioxidante, antibacteriana y antifúngica de los aceites esenciales de <i>Bidens pilosa</i> L, se identificó cuarenta y cuatro componentes, de los cuales β- cariofileno y τ-cadineno fueron los principales compuestos en hojas y flores. Los aceites y extractos acuosos de hojas y flores tienen actividad antibacteriana, antioxidante y antifúngicos.</p> <p>De acuerdo a Lastra y Ponce la planta contiene: aminas, esteroides y esteroides, terpenos, flavonoides, Los flavonoides compuestos fenólicos y taninos se hallan en mayor proporción en la planta.</p> <p>En otro estudio sobre actividad antifúngica in vitro de doce extractos etanólicos correspondientes a diez plantas medicinales peruanas contra <i>Cándida albicans</i> ATCC 10231 y <i>aspergillus niger</i> donde <i>Bidens pilosa</i> no tiene actividad antifúngica frente a los hongos estudiados.</p> <ul style="list-style-type: none"> • <i>Bidens pilosa</i> • <i>Candida albicans</i> • Morfología • Antifúngicos • Ketoconazol 	<p>VARIABLE INDEPENDIENTE: extracto acuoso, etanólico y metanólico de hojas de <i>Bidens pilosa</i> "sillkau" INDICADOR: Diferentes concentraciones: 2 mg/ml, 4 mg/ml, 6 mg/ml.</p> <p>VARIABLE DEPENDIENTE: Actividad antifúngica del extracto acuoso, etanólico metanólico de hojas <i>Bidens pilosa</i> "sillkau" Frente a <i>Cándida albicans</i>.</p> <p>INDICADOR: - Halo de inhibición (en mm.) -Concentración mínima inhibitoria (CMI) -Concentración mínima fungicida (CMF)</p>	<p>El extracto acuoso, etanólico metanólico de hojas de <i>Bidens pilosa</i> "sillkau" posee actividad antifúngica frente a <i>Cándida albicans</i>.</p>	<p>TIPO DE INVESTIGACION Experimental POBLACION La planta de <i>Bidens pilosa</i> L "sillkau" del distrito de Carmen Alto provincia de Huamanga- Ayacucho</p> <p>MUESTRA Cinco Kg. de hojas de <i>Bidens pilosa</i> L "sillkau" del distrito de Ayacucho</p> <p>METODOLOGIA Método de Kirby Bauer (perforación en agar) -preparar las placas con 20ml de agar saboraud previamente esterilizadas. -Sembrar <i>Cándida albicans</i> con un hisopo estéril en toda la superficie y hacer cuatro excavaciones con ayuda de un sacabocado de 8mm de diámetro. -agregar a cada uno de excavaciones las diferentes concentraciones del extractos de hojas de <i>Bidens pilosa</i> (acuoso, etanólico metanólica respectivamente) de con una tuberculina -incubar las placas después de 24 a 48 horas a una temperatura de 37°C. -leer halo de inhibición con una regla en mm</p> <p>ANALISIS ESTADISTICO Los datos serán analizados mediante análisis de varianza</p>

Capacidad antifúngica del extracto de hojas de *Bidens pilosa* L. "sillkau" frente a *Candida albicans* Ayacucho-2012.

Marina. Gonzales Gutierrez¹, Edna, Leon Palomino², Enrique Javier Aguilar Felices³, Serapio, Romero Gavilan.⁴

¹ Escuela de Formación Profesional de Farmacia y Bioquímica, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.³ Area Académica de Bromatología y nutrición, Escuela de Formación Profesional de Biología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.³ Area Académica de Farmacognosia, Escuela de Formación Profesional de Farmacia y Bioquímica, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.⁴ Area Académica de Microbiología y Bacteriología, Escuela de Formación Profesional de Biología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.

RESUMEN

El presente trabajo tiene por objetivo evaluar la capacidad antifúngica del extracto acuoso, etanólico y metanólico de hojas de *Bidens pilosa* L. "sillkau" frente a *Candida albicans*. Los experimentos fueron realizados en los Laboratorios de Bromatología y Microbiología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, durante los meses de abril a agosto del 2012. La muestra de *Bidens pilosa* L. fue recolectada en el campo de cultivo de distrito de Camen Alto, provincia de Huamanga, departamento de Ayacucho a 2760 m.s.n.m y la cepa de ensayo fue *Candida albicans* ATCC 10231 proporcionado por el laboratorio de Microbiología del Hospital Regional de Ayacucho. Los extractos de hojas de *Bidens pilosa* L. "sillkau" se obtuvieron por maceración durante siete días con constante agitación para el extracto etanólico y metanólico, y el extracto acuoso se llevó a decocción durante 20 minutos. La capacidad antifúngica de los extractos se determinó mediante el método Kirby - Bauer a las concentraciones de 2 mg/ml, 4 mg/ml y 6 mg/ml; obteniéndose el mayor halo de inhibición para el extracto acuoso 15,3 mm a una concentración de 6 mg/ml y para extracto etanólico de 15,2 mm a una concentración de 6 mg/ml y el extracto metanólico de 14,2 mm a una concentración de 6 mg/ml. Así mismo se determinó la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) por el método dilución en caldo y la Concentración Mínima Fungicida. Presentando la concentración mínima inhibitoria (CMI) para el extracto acuoso y el extracto etanólico de 0,375 mg/m y para el extracto metanólico de 0,75 mg/ml y la concentración mínima Fungicida (CMF) para el extracto acuoso y para el extracto etanólico de 0,75 mg/ml y metanólico a una concentración de 1,5 mg/ml respectivamente. Se concluye que el extracto acuoso, etanólico y metanólico de las hojas de *Bidens pilosa* L. "sillkau" tienen capacidad antifúngica frente a *Candida albicans* ATCC 10231.

Palabras clave. *Bidens pilosa* L., *Candida albicans*, Concentración Mínima Inhibitoria, Concentración Mínima Fungicida, Capacidad antifúngica.

ABSTRACT

The present study aims to evaluate the antifungal capacity of aqueous, ethanol and methanol leaves *Bidens pilosa* L. "sillkau" extract against *Candida albicans*. The experiments were performed in the laboratories of Food Science and Microbiology, Faculty of Biological Sciences, National University of San Cristobal de Huamanga, during the months of April to August 2012. The sample of *Bidens pilosa* L. was collected in the field culture district of Camen Alto, Huamanga province, Ayacucho department at 2760 m and the test strain was *Candida albicans* ATCC 10231 provided by the microbiology laboratory of the Regional Hospital of Ayacucho. The leaf extracts *Bidens pilosa* L. "sillkau" were obtained by maceration for seven days with constant stirring to the ethanolic and methanolic extract, and the aqueous extract was decoction for 20 minutes. Antifungal capacity of the extracts was determined using the method Kirby - Bauer concentrations of 2 mg/ml, 4 mg/ml and 6 mg/ml; obtaining the largest zone of inhibition for the aqueous extract 15.3 mm at a concentration of 6 mg/ml and 15.2 mm ethanolic extract at a concentration of 6 mg/ml and the methanolic extract of 14.2 mm to a concentration of 6 mg/ml. Likewise, the minimum inhibitory concentration (MIC) was determined by the broth dilution method and the minimum concentration Fungicide. Introducing the minimum inhibitory concentration (MIC) for the aqueous extract and ethanol extract of 0.375 mg/m for the methanol extract of 0.75 mg/ml and the minimum fungicidal concentration (MFC) for the aqueous extract and ethanol extract of 0.75 mg/ml and methanol at a concentration of 1.5 mg/ml respectively. We conclude that aqueous ethanol and methanol extract of the leaves of *Bidens pilosa* L. "sillkau" have antifungal capacity against *Candida albicans* ATCC 10231.

Passwords: *Bidens pilosa* L., *Candida albicans*, minimum inhibitory concentration, minimum fungicidal concentration, antifungal capacity

INTRODUCCIÓN

La medicina tradicional a base de plantas medicinales es un campo interesante y se convierte en una alternativa terapéutica para patologías específicas por su bajo costo y fácil acceso a la población de bajos recursos económicos. La actividad antifúngica de extractos de plantas usadas en la medicina popular contra diversos hongos patógenos, que afecta al hombre, es ampliamente estudiada por muchos investigadores a fin de encontrar una alternativa de tratamiento a las drogas sintéticas a las que se han vuelto resistente.¹

Los hongos que ocasionan una infección en el anfitrión se denominan patógenos primarios cuya característica manifiesta una determinada virulencia atravesando las barreras de la defensa del anfitrión. Los anfitriones inmunodeprimidos fácilmente son infectados por patógenos oportunistas más que los individuos sanos.²

Toda la especie perteneciente al género *Candida* son patógenos oportunistas frecuentes. Actualmente se sabe que estos microorganismos colonizan la mucosa digestiva y pasan al torrente circulatorio mediante un proceso de translocación gastrointestinal o a través de catéteres contaminados e interactúan con la defensa del organismo anfitrión para invadir los tejidos más profundos. La mayoría de las micosis orales están producidas por levaduras de *Candida albicans*.³ *Candida albicans* proviene del latín *Candidus* que significa blanco brillante. Por ello una infección por este hongo da un aspecto blanco en los cultivos aislados.⁴ La candidiasis vaginal se registra como la segunda causa más frecuente del síndrome de flujo vaginal en la mujer.⁵

La planta *Bidens pilosa* L. "sillkau" ha sido estudiada ampliamente por sus diversas propiedades farmacológicas, como antiinflamatorio, antiulceroso,⁶ cicatrizante,⁷ diurética,⁸ y otros. Los principales metabolitos secundarios de mayor concentración presentes en la planta son: los taninos, flavonoides, y cumarinas.⁷ Los estudios de *Bidens pilosa* L., con propiedades antimicóticas tienen resultados contradictorios por lo que se plantea los siguientes objetivos:

OBJETIVO GENERAL

- Evaluar la capacidad antifúngica de los extractos acuoso, etanólico y metanólico de hojas de *Bidens pilosa* L. "sillkau" frente a *Candida albicans*.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar la Concentración mínima inhibitoria (CMI) de los extractos acuoso, etanólico y metanólico de hojas de *Bidens pilosa* L. "sillkau" frente a *Candida albicans*.
- Determinar la Concentración mínima fungicida (CMF) de los extractos acuoso, etanólico y metanólico de hojas de *Bidens pilosa* L. "sillkau" frente a *Candida albicans*.

MATERIALES Y METODOS

UBICACIÓN

Se realizó en los laboratorios de Microbiología y Bromatología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga, provincia de Huamanga,

departamento de Ayacucho, en los meses de Abril a agosto del 2012.

MATERIALES

Población

Planta de *Bidens pilosa* L. "sillkau", del distrito de Carmen Alto, provincia de Huamanga, departamento de Ayacucho a 2 760 m.s.n.m.

Muestra

Cinco kg de hojas de *Bidens pilosa* L. "sillkau", las hojas en buenas condiciones, la identificación taxonómica fue emitida por la jefa del *Herbarium Huamangensis* de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga (anexo 1)

Microorganismo de ensayo

Candida albicans ATCC 10231 proporcionado por el laboratorio de Microbiología del Hospital Regional de Ayacucho.

DISEÑO METODOLÓGICO

Preparación del extracto hidroalcohólico

A 200 g de hojas pulverizada se le agregó un litro de alcohol de 96° y a 200 g de muestra pulverizada se le agregó un litro de metanol ambas en frascos de color ámbar, durante el proceso de maceración se agitó el frasco periódicamente dejando a temperatura ambiente durante siete días. El extracto obtenido fue filtrado a través de papel filtro Whatman n°4 y finalmente los solventes fueron evaporados en una estufa a una temperatura de 40°C.

Para el extracto acuoso se pesó 200 g de muestra seca y pulverizada y se agregó agua destilada estéril hasta cubrir la muestra y se llevó a ebullición durante 20 minutos. Luego se filtró y se llevó a concentrar en una estufa a una temperatura de 40°C.⁹ El extracto seco fue conservado en envases herméticos a temperatura ambiente hasta el momento de su uso.^{10, 11}

Determinación de la actividad antimicótica

Según la técnica de Kirby-Bauer (perforación en agar). Esta técnica se basa en la inhibición del crecimiento fúngico, mediante la difusión de sustancias activas en un medio sólido. En aquella zona donde no hay crecimiento fúngico, aparece un halo de inhibición.¹²

-Se procedió a repicar las colonias de *Candida albicans* en agar Sabouraud, incubando a 37°C por 24 horas.

Para la preparación del inóculo se procedió a seleccionar las colonias con asa estéril transfiriendo a un tubo de ensayo con 5 ml de agua destilada estéril y se ajustó la turbidez ópticamente similar al estándar de 0,5 de la escala de Mc Farland.

- En cada placa Petri previamente esterilizada se vertió 20 ml de Agar Sabouraud, quedando con un espesor de 4 mm aproximadamente, luego se dejó solidificar a temperatura ambiente.

- Se introdujo un hisopo estéril en el tubo para sacar un inóculo de *Candida albicans*, exprimiendo el exceso de agua en la pared del tubo.

- Luego, con el mismo hisopo se hizo la técnica de diseminación en las placas con agar Sabouraud.

- Se hicieron cuatro pozos equidistantes en cada placa con la ayuda de un sacabocado de 8 mm de diámetro. En cada pozo se depositó diferentes concentraciones de 0,02; 0,04; 0,06 ml del extracto acuoso, etanólico y metanólico de hojas de *Bidens pilosa* y en el pozo sobrante se depositó agua, etanol, metanol como control negativo.

- Finalmente se incubaron a 37°C por 48 horas.

- La lectura se realizó después de 48 horas, midiendo el diámetro de halo de inhibición en mm. Luego se hizo las comparaciones con ketoconazol (6 mg/ml) como control positivo.

Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI)

-Se prepararon 11 tubos para cada extracto previamente esterilizado y rotulado del número 1 al 11.

- Desde el tubo n° 1 hasta tubo n° 11, se agregó 1 ml de cloruro de sodio al 0,9 por ciento.

-Se agregó 1 ml del extracto acuoso (12 mg/ml de concentración) al tubo n° 1, a partir del cual se transfirió 1 ml al tubo n° 2 y así sucesivamente hasta el tubo n°10, del tubo n°10 se sustrajo 1 ml y se desechó. El tubo n° 11 no recibió el extracto, siendo este el control de crecimiento de hongos.

-Se agregó 0,1 ml del inóculo de *Candida albicans* ATCC 10231 del tubo n° 1 hasta el tubo n° 11.

- Los tubos se incubaron a 37°C por 24 horas.

- A las 24 horas se observó la presencia o ausencia de turbidez en los tubos.

-El tubo que no presentó turbidez indicó ausencia de crecimiento de los hongos, lo que se designó como la Concentración mínima inhibitoria (CMI).^{50, 51}

Tabla N° 1 Diluciones decreciente de extractos de hojas de *Bidens pilosa* L. "Sillkau".

Determinación de la Concentración Mínima Fungicida (CMF)

Se tomaron los tubos que no presentó turbidez a simple vista, de cada uno de los tubos se sembró de 0,1 ml de solución en placas con agar sabouraud, luego fueron incubados a 37°C por 24 horas. El cuadrante que no presenta crecimiento de las colonias indicó Concentración Mínima Fungicida.

ANÁLISIS DE DATOS

Los resultados se procesaron en cuadros mediante el análisis de varianza (ANOVA) con un nivel de significancia de 95%

RESULTADOS

Tubo	Concentración	Observación
1	12 mg/ml	Turbidez
2	6 mg/ml	Turbidez
3	3 mg/ml	Turbidez
4	1.5 mg/ml	Turbidez
5	0.75 mg/ml	Turbidez
6	0.375 mg/ml	Turbidez
7	0.1875 mg/ml	Turbidez
8	0.09375 mg/ml	Turbidez
9	0.046875 mg/ml	Turbidez
10	0.0234375 mg/ml	Turbidez
11	Control	Turbidez

Tubo	Concentración	Observación
1	12 mg/ml	Turbidez
2	6 mg/ml	Turbidez
3	3 mg/ml	Turbidez
4	1.5 mg/ml	Turbidez
5	0.75 mg/ml	Turbidez
6	0.375 mg/ml	Turbidez
7	0.1875 mg/ml	Turbidez
8	0.09375 mg/ml	Turbidez
9	0.046875 mg/ml	Turbidez
10	0.0234375 mg/ml	Turbidez
11	Control	Turbidez

Tubo	Concentración	Observación
1	12 mg/ml	Turbidez
2	6 mg/ml	Turbidez
3	3 mg/ml	Turbidez
4	1.5 mg/ml	Turbidez
5	0.75 mg/ml	Turbidez
6	0.375 mg/ml	Turbidez
7	0.1875 mg/ml	Turbidez
8	0.09375 mg/ml	Turbidez
9	0.046875 mg/ml	Turbidez
10	0.0234375 mg/ml	Turbidez
11	Control	Turbidez

Tubo	Concentración	Observación
1	12 mg/ml	Turbidez
2	6 mg/ml	Turbidez
3	3 mg/ml	Turbidez
4	1.5 mg/ml	Turbidez
5	0.75 mg/ml	Turbidez
6	0.375 mg/ml	Turbidez
7	0.1875 mg/ml	Turbidez
8	0.09375 mg/ml	Turbidez
9	0.046875 mg/ml	Turbidez
10	0.0234375 mg/ml	Turbidez
11	Control	Turbidez

DISCUSIÓN

La planta *Bidens pilosa* L. "sillkau" tiene varias propiedades curativas según la medicina

popular. Las hojas en infusión y cocido se mastican para las anginas, en la amigdalitis catarral, para las aftas bucales, infecciones renales, úlceras gastroduodenales, como cataplasma sobre heridas y tumores, para infecciones abdominales y cólicos (enemas). como menciona Borges.¹³ Así también, Lastra y Ponce de León mencionan que las flores, hojas y raíces son usadas como antiinflamatorias.¹⁴ También las flores se utilizan como antidiarreico y la raíz para el dolor de oído. Las semillas tostadas para incisiones externas y el zumo de la planta entera como antídoto en casos de envenenamiento, también se utiliza como un estimulante débil de la musculatura lisa del útero, tranquilizante, hemostática, emoliente,¹⁵ antitusiva, antipirética, antiséptica para la irritación de la piel y lavados vaginales, para dolores osteoarticulares, haciéndose aplicación

tópica,¹⁶ diurética,⁸ antibiótica,⁸ antifúngica.¹⁴ La tabla 2 nos muestra los diámetros de los halos de inhibición de tres concentraciones (2 mg/ml, 4 mg/ml y 6 mg/ml) del extracto acuoso de hojas de *Bidens pilosa* L. "sillkau", todas las concentraciones presentan halos de inhibición significativa. Se puede apreciar actividad antifúngica sobre *Candida albicans*, la de menor concentración, 2 mg/ml, tiene como promedio 10,2 mm de halo, mientras que la de 4 mg/ml tiene 12,9 mm de halo, la concentración de 6 mg/ml presenta un halo de inhibición de 15,3 mm se aproxima al estándar ketoconazol que tiene 17,4 mm de halo. La planta *Bidens pilosa* L. posee aceites esenciales, fitoesteroles, taninos tipo catecol, polisacáridos, flavonoides, aminas, mucilagos, terpenos, compuestos poliacetilenicos, glucósidos, friedelina, como menciona Waizel y Martínez.¹⁷

Así, Deba y col mencionan sobre el análisis farmacognóstico que *Bidens pilosa* L. presenta: azúcares reductores, mucilagos, pectinas, taninos, compuestos fenólicos, flavónicos, esteroides, lactonas sesquiterpénicas y aceites esenciales.¹⁶ Meneses al realizar la evaluación de los componentes fitoquímico de tallos y hojas de *Bidens pilosa* L. "sillkau", demostró la presencia de: alcaloides, glucósidos, taninos, cumarinas y flavonoides, Como menciona Lock, los compuestos flavonoides, taninos y cumarinas poseen propiedades antifúngicas y antibacterianas los que para *Bidens pilosa* L. serían los responsables de dicha actividad.¹⁹ La tabla 3 nos muestra los diámetros de halos de inhibición a diferentes concentraciones del extracto etanólico de hojas de *Bidens pilosa* L. frente a cepas de *Candida albicans*. Podemos ver que estos resultados contradicen lo obtenido por Huamani y Ruiz²⁰ que en su evaluación del extracto etanólico de *Bidens pilosa* L. concluyen que dicha planta no posee actividad antifúngica frente a cepas de *Candida albicans* pese a que lo hicieron a una mayor concentración del extracto. Una observación de este contraste es la procedencia de la planta pues Huamani investigó *Bidens pilosa* L. procedente de amazonas, considerando que las condiciones geográficas, clima, humedad, altitud, composición del suelo, son factores que influyen en la riqueza de los principios activos de la planta, a decir de Lock,¹⁹ nuestra planta es procedente de la localidad de Ayacucho zona que se caracteriza por abundante lluvia y además calor casi todo el año. Por otro lado, Lastra menciona que para el extracto etanólico al 95 % y extracto de acetona no presentó actividad antifúngica contra *Candida*

albicans. El resultado del extracto etanólico muestra que los compuestos extraídos poseen actividad antifúngica y que además de poseer fenoles, cumarinas, alcaloides, aceites esenciales, también posee taninos que al igual del extracto acuoso sería responsable de la actividad antifúngica. Los valores promedio de los halos de inhibición de tres concentraciones del extracto etanólico de *Bidens pilosa* L. sobre *Candida albicans* muestra claramente que a las concentraciones de 2 mg/ml, 4 mg/ml y 6 mg/ml; todas poseen capacidad antifúngica positivo presentando halos de inhibición de 9,6 mm, 11,8 mm, 15.2 mm respectivamente, pero esta última concentración es menor aun comparado con el estándar que presenta 17,4 mm de halo de inhibición como promedio.

En la Tabla 4 podemos apreciar los resultados de diámetros de halos de inhibición del extracto metanólico de hojas de *Bidens pilosa* L. frente a *Candida albicans* ATCC 10231, las tres concentraciones presentan capacidad antifúngica. Lastra menciona que los extractos clorofórmicos, metanólico y en éter de petróleo de *Bidens pilosa* L. tiene actividad contra levaduras de *Candida albicans*.⁹ Así, el promedio de los halos de inhibición de las tres concentraciones de 2 mg/ml, 4 mg/ml y 6 mg/ml de extracto metanólico frente a *Candida albicans* muestra los halos de 9,4 mm, 11,4 mm, 14,4 mm respectivamente. Los flavonoides, compuestos fenólicos y taninos se hallan en mayor concentración en el extracto metanólico de *Bidens pilosa* L.²⁷ Este hongo es dimórfico que forma parte de la microflora normal de las mucosas oral, vaginal y de la piel. Sin embargo, ocasiona enfermedades cuando existen factores predisponentes como la disminución de mecanismo inmunológico, alteraciones de barreras favoreciendo la invasión micótica etc.^{2, 21} para el caso del extracto metanólico las tres concentraciones presentan efecto antifúngico frente a *Candida albicans* La Concentración mínima inhibitoria (CMI) de los tres extractos sobre *Candida* se puede apreciar en la tabla 5 al aumentar la concentración del extracto el crecimiento de *Candida albicans* disminuye, demostrando un relación inversamente proporcional. Se determinó que la CMI para los extractos etanólico y acuoso fue de 0,375 mg/ml y para el metanólico fue 0,75 mg/ml. Así mismo, en la tabla 6 se puede apreciar la Concentración mínima fungicida (CMF) de los tres extractos contra *Candida albicans*. La lectura de Concentración mínima fungicida para el extracto etanólico y acuoso de hojas de *Bidens pilosa* L. "sillkau" fue 0,75 mg/ml, y para el extracto metanólico fue 1,5 mg/ml. Estos resultados nos indica que los tres extractos pueden aprovecharse para tratar enfermedades con infecciones de *Candida albicans*.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Marca R. Actividad antimicótica "in vitro" del aceite esencial *Cinnamomum zeylanicum* Breyn "canela" frente a *Candida albicans* ATCC 6538, Tacna, 2012 [Tesis-UNJBG]. Tacna. Facultad de Ciencias de la Salud Escuela Académico Profesional de Farmacia y Bioquímica.2013.URL:tesis.unjbg.edu.pe:8080/..

- /87_2013_Marca_Cuello_MR_FACS_Farmacología.
2. Murray P, Rosenthal K, Microbiología Médica, 5ta edición España: Editorial Elsevier.2006.
 3. Liébana J. Microbiología oral. 2da ed. España. Editorial Mac Grawn Hill. 2002 pg 222, 223,224.
 4. Falabella R, Chaparro J, Barona M, Domínguez L. Dermatología, 7ma ed. Colombia Ed. Corporación para investigación biológica. 2010
 5. Muñoz E, Angulo I, Chávez M, Luján M, Wilson J y Alayo G. Aislamiento de *Candida albicans* de mujeres con candidiasis vaginal atendidas en el Hospital Regional Docente de Trujillo-Perú, 2012.Revista Científica de la Facultad de Ciencias Biológicas Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo. Perú 1,32 Enero-Junio, 2012, [internet] [citado 2014 agosto 2] 42-103.Disponible en: www.facbio.unitr.edu.pe/index.php?option=com_docman
 6. Mejía K, Rengifo E. Plantas medicinales de uso popular en la amazonia parauana, 2da ed Editorial Agencia española de cooperación internacional. [revista en internet] 2000 [citado 2013 julio10]. Disponible en: www.iiap.org.pe/Upload/Publicación/L017.pdf
 7. Meneses R. Marcha fitoquímica y evaluación de la actividad cicatrizante de tallos y hojas de *Bidens pilosa* L "sillkau" [Tesis UNSCH]. Ayacucho. Facultad de Ciencias Biológicas. 2001
 8. Gonzales V. Actividad diurética del extracto atomizado de *Bidens pilosa* L "sillkau" en cobayos. [Tesis UNSCH]. Ayacucho. Facultad de Ciencias Biológicas. 2003.
 9. Godman y Gilman. Bases farmacológicas de la terapéutica. 11 ava ed, España, Edit Mc Graw Hill interamericana 2006.
 10. Cruz A, Rodríguez N, Rodríguez C. Evaluación in vitro del efecto antibacteriano de los extractos de *Bidens pilosa*, *Lantana cámara*, *Schinus molle* y *Silybum marianum*. Rev. U.D.CA Act. & Div. Cient. [revista en internet] 2010 [acceso 9 de noviembre de 2013];13(1):117-124.Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/rudca/v13n2/v13n2a14.pdf>
 11. Kuklinski C. Farmacognosia estudio de las drogas y sustancias medicamentosas. Barcelona: Omega. 2000.
 12. Koneman E. Diagnostico Microbiológico. 6ª Edición, España Ed.Editorial Médica. Panamericana. 2008.
 13. Borges C.C., Matos T. F., Moreira J., Rossato A.E., Zanette V. C., Amaral P. A. *Bidens pilosa* L. (Asteraceae): traditional use in a community of southern Brazil. Rev. bras. plantas med. [Internet]. 2013 [cited 2014 Dec 08]; 15(1): 34-40. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-0572-201300100004&lng=en. <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-05722013000100004>
 14. Lastra Valdés Humberto A, Ponce de León Rego Heidy. *Bidens pilosa* Linné. Rev Cubana Plant Med [revista en la Internet]. 2001 Abr [citado 2014 Dic 08]; 6(1): 28-33. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962001000100007&lng=es
 15. Arlene P. Bartolome I, Villaseñor T, Wen-Chin Yang, "*Bidens pilosa* L. (Asteraceae): Botanical Properties, Traditional Uses, Phytochemistry, and Pharmacology," Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, vol. 2013, [internet] 2013.[citado 2013 enero 2]. Disponible en: dx.doi.org/10.1155/2013/340215
 16. Rojas J, Ochoa V, Ocampo S, Muñoz J. Screening for antimicrobial activity of ten medicinal plants used in Colombian folkloric medicine: A possible alternative in the treatment of non-nosocomial infections.Complementary and Alternative MedicineDepartment of Pharmacy, Universidad de Antioquia, Colombia. [citado 2013 enero 2].Disponible en: <http://www.biomedcentral.com/1472-6882/6/2>
 17. Waizel-bucay j y martinez.Plantas empleadas en odontalgias. Medigrafic Artemisa. Vol. LXIV, No. 5 Septiembre-Octubre 2007 [internet], pp 173-186. [citado 2012 mayo 22]. Disponible en:www.medigraphic.com/pdfs/adm/od-2007/od075b.pdf
 18. Deba Dang Xuan, Masaaki Yasuda, Shinkichi Tawata. Chemical composition and antioxidant, antibacterial and antifungal activities of the essential oils from *Bidens pilosa* Linn var *Radiata*. [internet] [citado enero 29, 2013]. Disponible en: 193.146.160.29/gtb/sod/.../10311122_Deba.pdf
 19. Lock O. (1994) Investigación Fitoquímica: Métodos en el estudio de los productos naturales. 2da ed. Edición, Editorial Fondo de la Universidad Pontificia Católica del Perú; 1994.
 20. Huamaní M. y Ruiz J. Actividad antifúngica contra *Candida albicans* y *Aspergillus niger* de 10 plantas medicinales de tres departamentos del Perú [Tesis UNMSM]. Lima. Facultad de Farmacia y Bioquímica. 2005.
 21. Madigan M. Biología de los microorganismos. Ed 10ma. España: edit. Prentice Hall. 2003.