

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL
DE HUAMANGA**

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA



TESIS:

**Efecto antimicótico in vitro del extracto hidroalcohólico de *Schinus molle* L. “molle” sobre cepas de *Candida albicans* ATCC 10231,
Ayacucho - 2025**

Para optar el título profesional de:
BIÓLOGO, ESPECIALIDAD: MICROBIOLOGÍA

PRESENTADO POR:

Bach. Roger PALOMINO BENDEZU

ASESOR:

Mg. Luis Uriel MOSCOSO GARCÍA

AYACUCHO - PERÚ

2026

A mis padres, Julia y Narciso, por
ser mi apoyo y soporte constante
a lo largo de este proceso.

AGRADECIMIENTO

A mi *Alma Mater*, la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, por acogerme y darme la oportunidad de adquirir los conocimientos que permitieron mi formación profesional.

A la plana de docentes y administrativos de las diferentes Áreas Académicas de la Escuela Profesional de Biología - Facultad de Ciencias Biológicas, por compartir sus conocimientos y experiencias a lo largo de mi formación profesional y personal. Al Mg. Moscoso García, Luis Uriel asesor del presente trabajo, por su apoyo constante y darme las orientaciones y sugerencias necesarias.

ÍNDICE GENERAL

DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTO	iii
ÍNDICE DE TABLAS	vi
ÍNDICE DE FIGURAS	vii
ÍNDICE DE ANEXOS	viii
RESUMEN	ix
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	4
2.1. Antecedentes	4
2.1.1. Antecedentes internacionales	4
2.1.2. Antecedentes nacionales	5
2.2. Bases teóricas	6
2.2.1. <i>Candida albicans</i> : biología, estructura y factores de virulencia	6
2.2.2. Actividad antifúngica en extractos vegetales	7
2.2.3. Metabolitos bioactivos en <i>Schinus molle</i> L.	7
2.2.4. Ensayos biológicos: difusión en agar y macrodilución en caldo	8
2.2.5. Interpretación del efecto antimicótico	9
2.2.6. Justificación del uso de la cepa ATCC 10231	9
2.2.7. Propiedades fitoquímicas de <i>S. molle</i> L. (“molle”)	9
2.2.8. Patogenicidad y resistencia de <i>C. albicans</i>	12
2.2.9. Principios de las pruebas <i>in vitro</i> de sensibilidad antimicótica	13
2.2.10. Aspectos conceptuales	14
2.2.11. Aspectos jurídicos	15
III. MATERIALES Y MÉTODOS	17
3.1. Ubicación de la zona de estudio	17

3.2. Operacionalización de variables	17
3.3. Diseño experimental	21
3.3.1. Tipo de investigación	21
3.3.2. Diseño de la investigación	21
3.3.3. Técnicas de procesamiento y análisis de datos	22
3.4. Población y muestra	23
3.5. Técnicas e instrumentos de recolección de datos	24
3.5.1. Identificación botánica y voucher	24
3.5.2. Preparación del EHSM	24
3.5.3. Control de calidad del extracto	24
3.5.4. Tamizaje fitoquímico cualitativo	25
3.5.5. Cultivo e inoculación de <i>C. albicans</i>	25
3.5.6. Evaluación del efecto antimicótico mediante difusión en agar	26
3.5.7. Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) por el método de macrodilución en tubos y siembra en agar	26
3.5.8. Determinación de la Concentración Mínima Fungicida (CMF) por el método de macrodilución en tubos y siembra en agar	27
3.5.9. Comparación con Fluconazol	27
3.5.10. Aspectos éticos	28
3.5.11. Reproducibilidad del estudio	29
IV. RESULTADOS	30
V. DISCUSIÓN	49
VI. CONCLUSIONES	53
VII. RECOMENDACIONES	54
REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA	55
ANEXOS	61

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1 Variables de estudio	20
Tabla 2 Rendimiento del extracto hidroalcohólico de <i>Schinus molle</i> L.	30
Tabla 3 Tamizaje fitoquímico cualitativo del extracto hidroalcohólico de <i>Schinus molle</i> L.	31
Tabla 4 Efecto antimicótico del extracto hidroalcohólico de hojas de <i>Schinus molle</i> L. frente a <i>Candida albicans</i> ATCC 10231	32
Tabla 5 Efecto antimicótico del extracto hidroalcohólico de frutos de <i>Schinus molle</i> L. frente a <i>Candida albicans</i> ATCC 10231	33
Tabla 6 Comparación del efecto antimicótico entre hojas y frutos de <i>Schinus molle</i> L.	34
Tabla 7 Clasificación del efecto antimicótico según diámetro del halo de inhibición	35
Tabla 8 Prueba de normalidad de Shapiro-Wilk para los halos de inhibición	38
Tabla 9 Comparación de los halos de inhibición del extracto hidroalcohólico de hojas de <i>Schinus molle</i> L. frente a <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 mediante la prueba de Kruskal-Wallis	39
Tabla 10 Comparación de los halos de inhibición del extracto hidroalcohólico de frutos de <i>Schinus molle</i> L. frente a <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 mediante la prueba de Kruskal-Wallis	40
Tabla 11 Comparaciones múltiples post hoc de Dunn para los halos de inhibición del extracto hidroalcohólico de hojas de <i>Schinus molle</i> L.	41
Tabla 12 Comparaciones múltiples post hoc de Dunn para los halos de inhibición del extracto hidroalcohólico de frutos de <i>Schinus molle</i> L.	42
Tabla 13 Comparación de los halos de inhibición entre hojas y frutos de <i>Schinus molle</i> L. frente a <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 mediante la prueba U de Mann-Whitney	43
Tabla 14 Concentración mínima inhibitoria del extracto hidroalcohólico de <i>Schinus molle</i> L. frente a <i>Candida albicans</i> ATCC 10231	47

Tabla 15 Concentración mínima fungicida del extracto hidroalcohólico de *Schinus molle* L. frente a *Candida albicans* ATCC 10231 48

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1 Estructura de los compuestos más comunes en <i>S. molle</i> L.	12
Figura 2 Flujograma de trabajo	28
Figura 3 Ensayo de difusión en agar para la evaluación del efecto antimicótico del extracto hidroalcohólico de hojas de <i>Schinus molle</i> L. frente a <i>Candida albicans</i> ATCC 10231	36
Figura 4 Ensayo de difusión en agar para la evaluación del efecto antimicótico del extracto hidroalcohólico del fruto de <i>Schinus molle</i> L. frente a <i>Candida albicans</i> ATCC 10231	37
Figura 5 Estimación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) y concentración mínima fungicida (CMF) según el efecto antimicótico del extracto hidroalcohólico de <i>Schinus molle</i> L. a diferentes concentraciones, mostrando una tendencia de inhibición y crecimiento de <i>Candida albicans</i> ATCC 10231	44
Figura 6 Determinación de la concentración mínima fungicida (CMF) del extracto hidroalcohólico de frutos de <i>Schinus molle</i> L. mediante macrodilución y subcultivo en agar Sabouraud dextrosa frente a <i>Candida albicans</i> ATCC 10231	45
Figura 7 Determinación de la concentración mínima fungicida (CMF) del extracto hidroalcohólico de hojas de <i>Schinus molle</i> L. mediante macrodilución y subcultivo en agar Sabouraud dextrosa frente a <i>Candida albicans</i> ATCC 10231	46

ÍNDICE DE ANEXOS

	Pág.
Anexo 1 Identificación botánica de <i>Schinus molle</i> L. "molle"	61
Anexo 2 Proceso de secado de hojas y fruto de <i>Schinus molle</i> L. "molle"	62
Anexo 3 Proceso de pesado, triturado y obtención de extracto hidroalcohólico de <i>Schinus molle</i> L. "molle"	63
Anexo 4 Constancia de depósito en el Herbario San Cristóbal de Huamanga	64
Anexo 5 Visualización de las concentraciones empleadas en el ensayo de CMI y CMF mediante macrodilución	66
Anexo 6 Ficha de certificación de la cepa <i>Candida albicans</i> ATCC 10231	67
Anexo 7 Matriz de consistencia	68

RESUMEN

La presente investigación tuvo como objetivo evaluar el efecto antimicótico *in vitro* del extracto hidroalcohólico de *Schinus molle* L. frente a *Candida albicans* ATCC 10231, Ayacucho-2025. El estudio fue de tipo básico y diseño experimental. El extracto hidroalcohólico de hojas y frutos se obtuvo mediante maceración y se realizó un tamizaje fitoquímico cualitativo. Se evaluaron concentraciones de 25 %, 50 %, 75 % y 100 %, además de controles positivo y negativo, mediante difusión en agar. La concentración mínima inhibitoria (CMI) y la concentración mínima fungicida (CMF) se determinaron mediante macrodilución y subcultivo en agar Sabouraud dextrosa. El tamizaje fitoquímico evidenció flavonoides, fenoles, saponinas y terpenoides en hojas y frutos. Los halos promedio de inhibición en hojas fueron de 10,56; 15,71; 19,35 y 23,72 mm y en frutos de 11,95; 16,12; 19,94 y 25,52 mm para las concentraciones de 25 %, 50 %, 75 % y 100 %, respectivamente. El control positivo con fluconazol 25 µg presentó halos de 30,72 ± 0,50 mm y 30,82 ± 0,82 mm en los ensayos correspondientes a hojas y frutos, respectivamente; mientras que el control negativo con DMSO al 2 % no presentó efecto antimicótico. La CMI fue de 147,5 mg/mL y la CMF de 295 mg/mL para ambos extractos. Se concluyó que el extracto hidroalcohólico de *S. molle* L. presentó efecto antimicótico frente a *C. albicans* ATCC 10231, con incremento de los halos de inhibición conforme aumentó la concentración y valores ligeramente superiores en los extractos de frutos.

Palabras clave: *Schinus molle* L., *Candida albicans*, efecto antimicótico, extracto hidroalcohólico, CMI, CMF.

I. INTRODUCCIÓN

Las infecciones fúngicas representan actualmente una situación de relevancia sanitaria para la población debido al incremento de su prevalencia, mortalidad y resistencia a los tratamientos antifúngicos habituales. La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha estipulado que las infecciones provocadas por hongos patógenos afectan principalmente a personas inmunocomprometidas, pacientes hospitalizados y grupos vulnerables, generando complicaciones clínicas severas y elevadas tasas de mortalidad (OMS, 2022). Entre los hongos de mayor importancia clínica destacan las especies del género *Candida*, particularmente *Candida albicans*, considerada el factor primordial de la candidiasis invasiva y mucocutánea en humanos.

La candidiasis representa una de las micosis oportunistas más frecuentes a nivel global. La candidiasis vulvovaginal se encuentra entre las infecciones micóticas de mayor frecuencia en la población femenina. Se calcula que aproximadamente tres de cada cuatro mujeres experimentarán, por lo menos, un episodio a lo largo de su vida, siendo *Candida albicans* el agente etiológico más frecuente (Phillips et al., 2023).

Asimismo, la OMS incluyó recientemente a *Candida albicans* dentro del grupo crítico de patógenos fúngicos prioritarios debido a su elevada resistencia antifúngica, capacidad invasiva y relevancia clínica (OMS, 2022). En el Perú, diversos estudios han reportado una elevada prevalencia de candidiasis en diferentes grupos poblacionales. Sayago Alabrin et al. (2023) encontraron que *Candida albicans* estuvo presente en el 31,7 % de las mujeres de entre 15 y 49 años evaluadas en el Centro de Salud Morro Solar de Jaén. Asimismo, observaron que la infección se relacionó significativamente con factores como el lugar de procedencia, el consumo de antibióticos y la ausencia de uso de preservativo, mientras que Moreno-Loaiza & Moreno-Loaiza (2018) reportaron prevalencias de 46,48% en el Hospital Nacional de Arequipa. El incremento de la resistencia antifúngica y las limitaciones terapéuticas actuales han impulsado la búsqueda de nuevos métodos terapéuticos derivadas de insumos naturales. En este ámbito, las plantas terapéuticas constituyen una importante fuente de moléculas bioactivas con capacidad antimicrobiana y antifúngica. La medicina tradicional continúa siendo ampliamente utilizada en múltiples regiones del globo, específicamente en

países en desarrollo, debido a su accesibilidad y menor costo económico (Pereda, 2020).

Schinus molle L., conocido comúnmente como “molle”, es una especie de árbol ampliamente distribuida en Sudamérica y utilizada tradicionalmente con fines medicinales.

Diversos estudios han demostrado que esta planta posee compuestos bioactivos como flavonoides, fenoles, saponinas y terpenoides, los cuales presentan capacidades antimicrobianas, antiinflamatorias y antioxidantes. Turchetti et al. (2020) e İlğün et al. (2023) reportaron actividad antifúngica de extractos hidroalcohólicos y aceites esenciales de *Schinus molle* frente a especies del género *Candida*, atribuyendo esta actividad a la presencia de metabolitos secundarios capaces de alterar la membrana celular fúngica y afectar la síntesis de ergosterol.

A pesar de las evidencias existentes sobre la actividad biológica de *Schinus molle* L., aún son limitados los estudios orientados a comparar el efecto antimicótico entre diferentes órganos vegetales, como hojas y frutos, utilizando extractos hidroalcohólicos frente a cepas de *Candida albicans*. Además, existen variaciones metodológicas relacionadas con los métodos de extracción, concentraciones empleadas y técnicas de evaluación microbiológica, lo que dificulta la comparación directa de resultados entre investigaciones (Vieille et al., 2024).

Por ello, la presente investigación evaluó el efecto antimicótico *in vitro* del extracto hidroalcohólico de hojas y frutos de *Schinus molle* L. frente a una sola cepa de *Candida albicans*, mediante la determinación de halos de inhibición, CMI, CMF y la caracterización fitoquímica preliminar.

Los resultados obtenidos aportan evidencia científica sobre el potencial antimicótico de esta especie vegetal como posible alternativa terapéutica natural frente a infecciones ocasionadas por *Candida albicans*.

Objetivo general

Evaluar el efecto antimicótico de diferentes concentraciones del extracto hidroalcohólico de *Schinus molle* L. (EHSM) frente a la cepa de referencia *Candida albicans* ATCC 10231.

Objetivos específicos

- Identificar los principales metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de hojas y frutos de *Schinus molle* L. mediante tamizaje fitoquímico cualitativo.
- Determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) del extracto hidroalcohólico de *Schinus molle* L. frente a *Candida albicans* ATCC 10231.
- Determinar la concentración mínima fungicida (CMF) del extracto hidroalcohólico de *Schinus molle* L. frente a *Candida albicans* ATCC 10231.
- Comparar el efecto antimicótico del extracto hidroalcohólico de hojas y frutos de *Schinus molle* L. frente a *Candida albicans* ATCC 10231 mediante los halos de inhibición obtenidos a concentraciones de 25 %, 50 %, 75 % y 100 %.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

2.1.1. Antecedentes internacionales

Turchetti et al. (2020), evaluaron extractos hidroalcohólicos de hojas de *Schinus molle* L. obtenidos de árboles masculinos y femeninos. La actividad ante a la cepa de referencia *C. albicans* ATCC 10231 se determinó mediante ensayos de difusión en agar y microdilución en caldo para CMI. Posteriormente, las fracciones bioactivas se separaron por cromatografía y se caracterizaron por GC-MS, identificándose principalmente sesquiterpenos. Las fracciones enriquecidas mantuvieron la actividad y mostraron CMI menores que el extracto crudo, lo que indica un efecto conjunto de compuestos sesquiterpénicos en la inhibición de *C. albicans*.

En el ámbito odontológico, Viegas et al. (2020), ensayaron un extracto glicólico de *Schinus terebinthifolius* (especie afín a *S. molle*) frente a cuatro especies de *Candida*, incluida *C. albicans* ATCC 18804. Emplearon microdilución en caldo según normas CLSI para determinar CMI y CMF, además de ensayos sobre biofilms. Para *C. albicans* obtuvieron una CMI de 1,56 mg/mL y una CMF de 3,13 mg/mL; el extracto redujo de forma significativa las UFC en biofilms tanto en exposiciones cortas (5 min) como prolongadas (24 h), evidenciando una actividad antifúngica y anti-biofilm con posible aplicación en estomatitis protésica.

İlgün et al. (2023), estudiaron extractos fenólicos hidroalcohólicos de hojas y frutos de *S. molle* L. Tras caracterizar el perfil químico por técnicas cromatográficas, evaluaron la actividad antimicrobiana frente las bacterias *S. aureus*, *E. coli* y la levadura *C. albicans* mediante microdilución para CMI. Frente a *C. albicans*, los extractos mostraron actividad fungicida moderada sobre formas planctónicas, pero sin efecto relevante sobre el biofilm. Los autores concluyen que la fracción fenólica de *S. molle* L. afecta principalmente la viabilidad de células libres, lo que sugiere combinar estos extractos con agentes dirigidos a la matriz o a factores de virulencia cuando se busca erradicar biofilms.

En otro trabajo, da Silva et al. (2024), analizaron aceites volátiles obtenidos de hojas secas de *S. molle* L. y de mezclas con otras especies. La actividad anticandidal se cuantificó por medio de microdilución en caldo y ensayos de viabilidad (MTT), obteniéndose CMI entre 31,25 y 250 µg/mL según la composición

del aceite y la especie de *Candida* estudiada. Las formulaciones con mayor proporción de monoterpenos, como α -pineno y limoneno, presentaron una inhibición más intensa del crecimiento, resaltando la influencia del quimiotipo y la necesidad de estandarizar la composición de los aceites esenciales de *S. molle* L. para uso antifúngico.

Finalmente, Man et al. (2022), compararon aceites esenciales de varias plantas aromáticas (albahaca, canela, clavo, melaleuca, orégano y tomillo) frente a cinco especies de *Candida*, incluida *C. albicans*. Mediante microdilución determinaron CMI y evaluaron crecimiento, formación de tubos germinativos, expresión de genes de virulencia (ALS3, SAP2, HSP70) y actividad anti-biofilm. Los aceites de canela y clavo, ricos en monoterpenos fenólicos como eugenol y cinamaldehído, mostraron la mayor potencia antifúngica y redujeron la filamentación y la expresión de genes de virulencia. Aunque estos aceites no proceden de *Schinus*, sus perfiles terpénicos son comparables a los descritos para *S. molle* L. y aportan evidencia mecanística de cómo mezclas terpénicas pueden actuar simultáneamente sobre viabilidad y factores de virulencia de *Candida*.

2.1.2. Antecedentes nacionales

Jaramillo-Ordoñez (2020), evaluó el extracto etanólico de un líquen del género *Usnea* frente a especies de *Candida*. La autora empleó principalmente ensayos de difusión en agar, midiendo los halos de inhibición en milímetros, y comparó diferentes concentraciones del extracto con controles de referencia. Se observó actividad antifúngica discreta pero consistente frente a *C. albicans*, aunque no se determinaron CMI/CMF. El estudio concluye que estos resultados apoyan el potencial de los líquenes como fuente de metabolitos anticandidales y recomienda avanzar hacia ensayos cuantitativos de MIC/MFC y estandarización de concentraciones.

Saenz Pupuche et al. (2021), examinaron el extracto etanólico de rizomas de *Curcuma* spp. frente a levaduras del género *Candida*. La capacidad antifúngica se cuantificó mediante difusión en agar y pruebas de dilución en caldo para estimar la CMI. El extracto mostró halos de inhibición moderados y reducción del crecimiento en caldo a concentraciones intermedias, con menor efecto a bajas dosis. Aunque no se realizó fraccionamiento, la autora plantea la necesidad de un fraccionamiento bio-guiado para aislar las fracciones más activas y definir con mayor precisión el rango de CMI frente a *C. albicans*.

Mendoza-León et al. (2022), estudiaron el extracto etanólico de hojas de una especie aromática nativa con uso tradicional en infecciones cutáneas y orales. Emplearon difusión en agar y dilución en caldo frente a *C. albicans* y otras levaduras, complementando con pruebas de citotoxicidad en células eucariotas. El extracto presentó actividad antifúngica moderada, con halos y CMI superiores a los de los antifúngicos de referencia, pero con buena selectividad frente a células hospedero. Los autores recomiendan profundizar mediante fraccionamiento bio-dirigido para identificar los compuestos responsables y optimizar la potencia del extracto frente a *C. albicans*.

Loyola Gil et al. (2022), determinaron el efecto antifúngico de un extracto hidroalcohólico de una planta medicinal peruana sobre *C. albicans* aislada de cavidad oral. La actividad se midió mediante difusión en agar y pruebas complementarias sobre formación de tubos germinativos y viabilidad celular, con el fin de explorar posibles efectos sobre factores de virulencia. El extracto mostró inhibición del crecimiento y reducción parcial de la filamentación, lo que sugiere un impacto no solo fungistático sino también sobre la morfología de *C. albicans*. Los autores señalan la importancia de esclarecer los mecanismos de acción (p. ej., permeabilización de membrana) y optimizar las concentraciones para un uso potencial en formulaciones tópicas.

Finalmente, Castro Luna et al. (2024), evaluaron el aceite esencial de hojas de *Juglans* spp. frente a especies de *Candida* asociadas a infecciones orales. El aceite se caracterizó mediante técnicas cromatográficas y luego se probó por difusión en agar y dilución en caldo. Frente a *C. albicans* se observaron halos de inhibición y CMI en el rango de concentraciones medias, inferiores en potencia a los antifúngicos convencionales pero superiores a otras especies vegetales estudiadas. El trabajo concluye que los aceites esenciales de árboles nativos constituyen una fuente prometedora de compuestos anticandidales, aunque advierte la necesidad de comparar distintos órganos y métodos de extracción antes de plantear aplicaciones clínicas.

2.2. Bases teóricas

2.2.1. *Candida albicans*: biología, estructura y factores de virulencia

Es una levadura oportunista dimórfica capaz de alternar entre formas levaduriformes, pseudohifas e hifas verdaderas, lo cual constituye un factor clave en su patogenicidad. Posee una pared celular compuesta por β -glucanos,

mananos y quitina, organizada en una matriz dinámica que facilita la adhesión, reconocimiento del hospedero y resistencia a agentes antifúngicos (Gow et al., 2017).

Entre sus principales factores de virulencia destacan:

- **Morfogénesis levadura-hifa**, que permite invasión tisular.
- **Formación de biofilm**, con elevada tolerancia a antifúngicos.
- **Hidrolasas secretadas** (aspartil-proteasas SAP, fosfolipasas), relacionadas con degradación de tejidos.
- **Regulación genética** a través de factores como Efg1 y Cph1 que modulan filamentación y adaptación al estrés (Nobile & Johnson, 2016).

La cepa de referencia ATCC 10231 es un modelo estándar ampliamente empleado para estudios de susceptibilidad y ensayos *in vitro* por su estabilidad fenotípica, crecimiento reproducible y perfiles de control de calidad establecidos por CLSI/EUCAST.

2.2.2. Actividad antifúngica en extractos vegetales

Estos contienen mezclas complejas de metabolitos secundarios como terpenos, fenoles, flavonoides, taninos y saponinas, los cuales pueden ejercer efectos antifúngicos por mecanismos múltiples. Entre los mecanismos más descritos se incluyen:

- Alteración de la permeabilidad e integridad de la membrana.
- Interferencia con la síntesis de ergosterol.
- Generación de estrés oxidativo por radicales libres.
- Inhibición de enzimas clave del metabolismo fúngico (Silva et al., 2022; Viegas et al., 2020).

A diferencia de los antifúngicos sintéticos de blanco único (equinocandinas, azoles), los extractos vegetales suelen actuar mediante mecanismos combinados, por lo que su potencia depende de la sinergia interna de sus compuestos.

2.2.3. Metabolitos bioactivos en *Schinus molle* L.

Schinus molle L. contiene una gran diversidad de compuestos:

- **Monoterpenos y sesquiterpenos** (α -pineno, β -pineno, limoneno, germacreno, muuroleno).
- **Flavonoides y derivados fenólicos** (quercetina, rutina).
- **Taninos y triterpenos.**

Los terpenos son los principales responsables del efecto antimicótico descrita en diferentes estudios, ya que pueden insertarse en la membrana citoplasmática de *Candida*, aumentar la permeabilidad y alterar el gradiente electroquímico, provocando inhibición o muerte celular (da Silva et al., 2024). Los compuestos fenólicos, por su parte, pueden inducir estrés oxidativo y comprometer la función enzimática.

El extracto hidroalcohólico (etanol/agua) permite solubilizar tanto metabolitos polares como apolares, generando perfiles fitoquímicos más amplios y favoreciendo efectos combinados.

2.2.4. Ensayos biológicos: difusión en agar y macrodilución en caldo

a) Difusión en agar

En la técnica de difusión en agar, discos impregnados con una concentración conocida del extracto se colocan sobre placas con agar Sabouraud dextrosa (SDA) inoculadas uniformemente con *C. albicans*. Tras 24 horas de incubación a 35 °C, se mide el halo de inhibición en milímetros.

Es un método cualitativo y semi-cuantitativo útil para comparar concentraciones del extracto y establecer actividad inicial (CLSI, 2022).

b) Macrodilución en caldo sabouraud

La macrodilución en caldo Sabouraud es un método estándar para determinar la CMI y la CMF en tubos de ensayo.

Se preparan diluciones seriadas del extracto (por ejemplo, 10% a 0,0195%) y se inoculan con suspensiones estandarizadas de *C. albicans* ATCC 10231.

- CMI: menor concentración sin crecimiento visible.
- CMF: menor concentración que reduce $\geq 99,9\%$ de UFC respecto al inóculo inicial (CLSI M27-A3).

Este método es adecuado para laboratorios que no disponen de microplacas ni medio RPMI-1640, permitiendo obtener resultados confiables con insumos disponibles.

2.2.5. Interpretación del efecto antimicótico

La actividad de un extracto se interpreta combinando:

- Diámetros de halos en difusión en agar,
- Valores de CMI/CMF en macrodilución,
- Comportamiento dosis-respuesta, analizando si la inhibición aumenta de forma monotonía con la concentración.

Debido a la complejidad química y a las dificultades de estandarización de los extractos naturales, su actividad antimicrobiana puede evaluarse mediante métodos de difusión y dilución, considerando diferentes concentraciones y controles experimentales adecuados. Los métodos de dilución permiten determinar cuantitativamente la CMI, mientras que los ensayos de difusión permiten valorar la actividad mediante los diámetros de las áreas de inhibición (Gonzalez-Pastor et al., 2023).

2.2.6. Justificación del uso de la cepa ATCC 10231

Se utiliza como cepa de referencia en estudios de sensibilidad por:

- estabilidad genética y fenotípica,
- disponibilidad de rangos de control de calidad para asegurar validez experimental,
- comparabilidad de resultados con estudios previos,
- ausencia de variabilidad clínica que pueda sesgar resultados en extractos crudos.

Su uso es especialmente adecuado cuando la investigación no emplea aislamientos clínicos, y cuando el objetivo es caracterizar la actividad básica de un extracto antes de avanzar a estudios en cepas resistentes o biofilms clínicos.

2.2.7. Propiedades fitoquímicas de *S. molle* L. (“molle”)

S. molle L. concentra una diversidad de metabolitos secundarios de distinta polaridad. En extractos hidroalcohólicos (60–80% metanol o etanol), las fracciones

polares suelen enriquecer polifenoles, ácidos fenólicos y flavonoides, entre los que destacan ácido clorogénico, ácido cafeico e hiperósido (quercetina-3-O-galactósido), identificados por HPLC en hojas y frutos. En particular, el extracto metanólico de fruto maduro mostró el mayor contenido de ácido clorogénico y evidenció actividad antimicrobiana moderada frente a *C. albicans* (por CMI/MIC), sin traducirse en inhibición de biofilm bajo las condiciones del estudio *in vitro* (İlgün et al., 2023). Esta firma polifenólica característica de los extractos hidroalcohólicos contrasta con el perfil de los aceites esenciales obtenidos por destilación, en los que predominan mono- y sesquiterpenos (p. ej., α/β -pineno, limoneno, espatulenol), compuestos asociados a la fracción lipofílica y a parte de su bioactividad (Doleski Muhd et al., 2015).

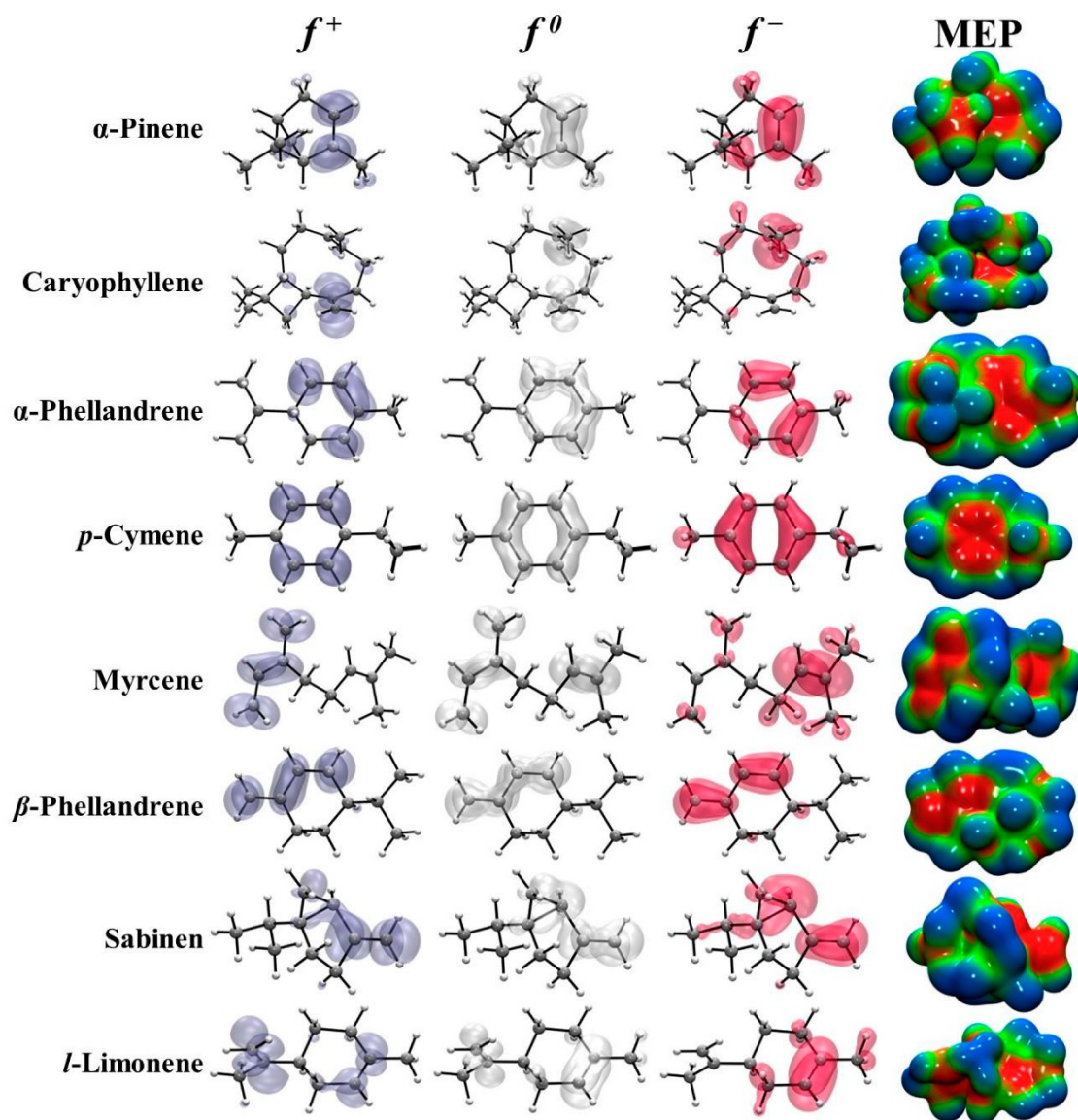
La composición varía con el órgano vegetal, el estado de madurez y la microestructura del fruto. En bayas de *S. molle* L. de Sudáfrica, la decorticación del pericarpio (husk) alteró de manera marcada el patrón polifenólico: el husk concentró flavonoles y fenólicos de mayor masa, mientras que el endospermo exhibió otros ácidos hidroxicinámicos, confirmando que la matriz condiciona la selectividad de extracción (Bvenura & Kambizi, 2022).

De forma concordante, una comparación entre especies del género mostró que los frutos de *S. molle* L. contienen 16 compuestos mayoritarios por HPLC-ESI-QTOF-MS/MS (frente a 30 en *S. terebinthifolius*), con derivados de quercetina y ácidos hidroxicinámicos como señales químicas asociadas a actividad antioxidante y antiinflamatoria *in vitro* e *in vivo*, reforzando a los polifenoles como marcadores químicos de la especie (Tlili et al., 2018).

Desde la perspectiva antimicrobiana, también las fracciones menos polares aportan al efecto. En hojas de *S. molle* L., una fracción dietétera (LPCC) enriquecida en sesquiterpenoides (p. ej., ácido hexadecanoico) produjo halos de inhibición frente a *C. albicans* y mejoró la potencia, reduciendo la CMI/MIC de 400 a 64 $\mu\text{g/mL}$, lo que sugiere sinergia entre ácidos grasos y terpenoides en matrices semipolares. En conjunto, la evidencia indica que los extractos hidroalcohólicos concentran la fracción fenólica (con potencial antifúngico y capacidad antioxidante), mientras que fracciones menos polares fortalecen el aporte de terpenoides bioactivos; ambas contribuyen al efecto anticándida según método de extracción y órgano utilizado (İlgün et al., 2023; Turchetti et al., 2020).

En la figura 1 se observan los constituyentes mayoritarios del aceite esencial de *S. molle* L. (semillas)— α -phellandreno, β -myrceno, limoneno, β -phellandreno, α -pineno, sabineno, *p*-cimeno y cariofileno—que muestre mapas de potencial electrostático molecular (MEP) y superficies de reactividad (índices de Fukui: f^+ , f^0 , f^-); estos perfiles permiten identificar sitios nucleofílicos/electrofílicos coherentes con su actividad antioxidante y antiproliferativa. La composición representativa (α -phellandreno $\approx 34\%$, β -myrceno $\approx 23\%$, limoneno $\approx 13\%$, β -phellandreno $\approx 7\%$) y la alta nucleofilidad de α/β -phellandreno y β -myrceno se documentan en un estudio chileno que caracterizó el extracto por GC-MS e integró evaluación *in vitro* e *in silico* (Oses et al., 2025).

Figura 1. Estructura de los compuestos más comunes en *S. molle* L.



2.2.8. Patogenicidad y resistencia de *C. albicans*

Es un hongo oportunista con notable plasticidad morfológica, alternando entre levadura e hifa. Esta transición, sumada a adhesinas (familia Als) y proteasas secretadas, favorece adhesión, invasión tisular y formación de biofilms. Los biofilms, frecuentes en *C. albicans*, presentan arquitectura estratificada y una matriz extracelular (rica en β -glucanos) que, junto con gradientes de oxígeno y la inducción de rutas de estrés, confiere tolerancia a múltiples fármacos y dificulta su erradicación clínica (Atriwal et al., 2021; Cavalheiro & Teixeira, 2018). Los biofilms, muy frecuentes en *C. albicans*, presentan arquitectura estratificada y se asocian con tolerancia a múltiples fármacos por secuestro en la matriz (β -glucanos),

gradientes de oxígeno y la inducción de respuestas de estrés, dificultando la erradicación clínica (Cavalheiro & Teixeira, 2018).

Los mecanismos de resistencia adquirida se observan especialmente frente a azoles y equinocandinas. En azoles, destacan mutaciones en ERG11 (lanosterol-14 α -desmetilasa) en zonas hot-spot (aa 105–165, 266–287 y 405–488) y la sobreexpresión mediada por Upc2; adicionalmente, bombas de eflujo de la superfamilia ABC (CDR1/CDR2, reguladas por Tac1) y MFS (MDR1, regulada por Mrr1) disminuyen la concentración intracelular del fármaco. Para equinocandinas, las sustituciones en FKS1 (hot-spots aa 637–654 y 1345–1365) reducen la afinidad por la β -1,3-glucano-sintasa y condicionan resistencia clínica (Czajka et al., 2023). Revisiones recientes subrayan, además, la distinción entre resistencia intrínseca y adquirida, el papel de la aneuploidía y la variabilidad geográfica de la sensibilidad, elementos cruciales para interpretar MIC/CMI y guiar el tratamiento (Czajka et al., 2023). Los biofilms interactúan con estos mecanismos: la matriz y la señalización de estrés (p. ej., Hsp90) potencian tolerancia y favorecen subpoblaciones persistentes, explicando fracasos clínicos pese a MIC bajas en poblaciones planctónicas (Atriwal et al., 2021; Czajka et al., 2023).

2.2.9. Principios de las pruebas *in vitro* de sensibilidad antimicótica

La estandarización internacional de la susceptibilidad antifúngica se sustenta en microdilución en caldo, conforme a CLSI y EUCAST. Con CLSI para levaduras, el inóculo se ajusta a $0.5\text{--}2.5 \times 10^3$ cel/mL en RPMI-1640, con incubación a 35 °C por 24 h. El MIC/CMI para azoles, equinocandinas y 5-FC corresponde a la menor concentración con $\geq 50\%$ de reducción del crecimiento respecto al control; para anfotericina B se requiere 100% de inhibición (primer pozo claro) (Berkow et al., 2020). Se recomienda, según EUCAST, 2% de glucosa, inóculos de 10^5 cel/mL y lectura espectrofotométrica (530 nm); el MIC/CMI para azoles/5-FC se define como $\geq 50\%$ de reducción y, para anfotericina B, $\geq 90\%$. Ambas guías reconocen fenómenos interpretativos, trailing con azoles; efecto paradójico con equinocandinas, que pueden simular resistencia si no se interpretan con cautela (Berkow et al., 2020).

Además de la microdilución, se emplea la difusión en disco sobre agar Mueller-Hinton suplementado (glucosa 2% y azul de metileno). Las zonas de inhibición pueden correlacionarse con MIC/CMI y traducirse en categorías interpretativas cuando existen puntos de corte clínicos (p. ej., fluconazol, voriconazol,

casposfungina en *Candida*) (Arendrup et al., 2012). En entornos asistenciales, se recomienda integrar breakpoints CLSI/EUCAST y ECOFF/ECV para discriminar no-wild-type allí donde falten puntos de corte clínicos, así como reconocer los límites y utilidades de métodos comerciales (Etest/MIC Test Strip, Sensititre YeastOne, VITEK 2), cuyos ECV dependientes del método pueden mejorar la concordancia categórica frente a las técnicas de referencia (Espinel-Ingroff et al., 2015). En todo caso, la lectura de MIC/CMI debe vincularse a farmacocinética/farmacodinámica y a puntos de corte por especie para estimar la probabilidad de éxito terapéutico (Berkow et al., 2020; Espinel-Ingroff et al., 2015).

2.2.10. Aspectos conceptuales

Concentración mínima inhibitoria (CMI)

Parámetro que define la menor concentración de un agente antifúngico que impide visiblemente el crecimiento del microorganismo bajo condiciones estandarizadas. Es el indicador central en pruebas de susceptibilidad *in vitro* y se interpreta frente a puntos de corte clínicos para orientar la terapia (Turnidge & Paterson, 2007).

Concentración mínima fungicida (CMF)

Corresponde a la menor concentración que elimina $\geq 99,9\%$ del inóculo inicial, determinada por subcultivo tras la exposición. Permite discriminar agentes con efecto fungistático de aquellos con actividad fungicida (Aller et al., 2000).

Extracto hidroalcohólico

Es aquel destilado a partir de la maceración o percolación de material vegetal con una mezcla agua-alcohol, que permite la extracción de moléculas tanto polares como semipolares. Este tipo de extracto es ampliamente empleado en farmacognosia por su capacidad de concentrar metabolitos fenólicos y terpenoides bioactivos (Dhanani et al., 2017).

Fito compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos presentes en las plantas constituyen metabolitos secundarios cuya estructura se distingue por contener al menos un anillo aromático con grupos hidroxilo. Incluyen ácidos fenólicos, flavonoides y taninos, y poseen reconocida actividad antioxidante, antiinflamatoria y antimicrobiana (Panche et al., 2016).

Terpenoides

Son metabolitos derivados del isopreno que incluyen monoterpenos, sesquiterpenos y diterpenos, presentes en aceites esenciales y resinas. Exhiben actividades biológicas diversas, destacando propiedades antimicrobianas, antiinflamatorias y citotóxicas (Thoppil, 2011).

La evidencia disponible indica que *S. molle* L. posee actividad antimicrobiana, incluida actividad frente a *C. albicans*, aunque la magnitud del efecto puede variar según el órgano vegetal, el método de extracción y la composición fitoquímica del producto evaluado (Turchetti et al., 2020; İlğün et al., 2023). Asimismo, la resistencia antifúngica de *C. albicans*, asociada con mecanismos como la sobreexpresión de bombas de eflujo, alteraciones de la vía del ergosterol y cambios en las dianas de los antifúngicos, constituye una dificultad para el manejo profiláctico de infecciones causadas por esta especie (Czajka et al., 2023). En este contexto, la evaluación estandarizada del extracto hidroalcohólico de *S. molle* L. frente a *C. albicans* ATCC 10231, mediante ensayos de difusión y macrodilución y el empleo de controles experimentales, permite generar evidencia reproducible sobre su actividad antimicótica y contribuir al conocimiento de su potencial como fuente de compuestos bioactivos.

2.2.11. Aspectos jurídicos

En el Perú, la investigación biomédica con agentes biológicos y productos naturales está regulada por múltiples normas jurídicas y técnicas que aseguran la calidad, la bioseguridad y el respeto a principios éticos fundamentales.

En el Perú, la investigación con productos naturales debe desarrollarse respetando las normas nacionales sobre investigación científica, bioseguridad y ética. Asimismo, la identificación botánica, la recolección y el procesamiento del material vegetal deben realizarse siguiendo procedimientos estandarizados que garanticen la trazabilidad, la calidad del material de estudio y la replicabilidad de los resultados. En esta investigación también se aplicaron las normas de bioseguridad para el manejo de microorganismos en laboratorio y los lineamientos éticos contemplados en la Declaración de Helsinki y en las directrices internacionales del CIOMS para investigaciones vinculadas con la salud humana, considerando únicamente aquellos criterios pertinentes para estudios de naturaleza experimental (OMS, 2020).

Por otro lado, el Instituto Nacional de Salud (INS), a través del Reglamento de Ensayos Clínicos (D.S. N.° 021-2017-SA) y de la Guía Nacional de Ética en Investigación (INS, 2019), establece que todo proyecto de investigación que involucre agentes biológicos debe contar con la venia de un Comité Institucional de Ética en Investigación (CIEI). Aunque los estudios *in vitro* no involucran directamente a seres humanos, sí requieren cumplir normas de bioseguridad en laboratorios de microbiología, en concordancia con el Manual de Bioseguridad del INS (2016).

Asimismo, la manipulación de cepas de *C. albicans* debe regirse bajo los estándares de la OMS y de la Organización Panamericana de la Salud (OPS), que recomiendan aplicar prácticas de nivel de bioseguridad 2 (BSL-2) para hongos oportunistas, asegurando el uso de cabinas de bioseguridad, equipos de protección personal y protocolos de eliminación de desechos contaminados.

Finalmente, desde el punto de vista ético, el proyecto debe alinearse con los principios de la Declaración de Helsinki (2013) y con las Pautas Internacionales de Ética en Investigación Biomédica del CIOMS (2016), que enfatizan la obligación de proteger la integridad científica, la trazabilidad de resultados y la seguridad del personal involucrado en el manejo de agentes biológicos.

En este marco jurídico y ético, la investigación propuesta asegura el acatamiento de las disposiciones nacionales e internacionales, garantizando que el trabajo experimental con extractos hidroalcohólicos de *S. molle* L. y cepas de *C. albicans* se realice con responsabilidad, seguridad y rigor científico.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Ubicación de la zona de estudio

La investigación se desarrolló en dos sedes. La recolección del material vegetal, la preparación del extracto hidroalcohólico, el control de calidad del extracto, el tamizaje fitoquímico y las demás actividades relacionadas con la obtención y caracterización del extracto se realizaron en los Laboratorios de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga (UNSCH), Ayacucho. Por otra parte, todos los procedimientos microbiológicos, incluyendo el cultivo de *C. albicans* ATCC 10231, la preparación del inóculo, los ensayos de difusión en agar, la determinación de la CMI, la CMF y la lectura de los resultados, se realizaron en el Centro Médico Señal de Vida, bajo condiciones controladas de bioseguridad.

3.2. Operacionalización de variables

Variable independiente

Nombre: Extracto hidroalcohólico de *S.molle* L.

Definición operativa: Preparado hidroalcohólico (etanol-agua) obtenido de hojas/frutos de *S. molle* L., filtrado y concentrado, que se diluyó para ensayos *in vitro*.

Dimensión: Concentración del extracto.

Indicador: porcentaje volumen/volumen (% v/v) o mg/mL del extracto en el pozo de ensayo.

Categorías/Gradientes: 25%, 50%, 75%, 100% (y diluciones seriadas para CMI/CMF: p.ej., 10→0,0195% en diluciones seriadas para CMI/CMF en tubos con caldo Sabouraud dextrosa).

Escala: Cuantitativa continua (intervalo/razón).

Unidad: porcentaje volumen/volumen (% v/v) y/o mg/mL.

Instrumento/técnica: Micropipetas automáticas, tubos de ensayo estériles con caldo Sabouraud dextrosa, placas Petri.

Procedimiento de medición: Preparación de soluciones madre y diluciones seriadas; verificación volumétrica y uso inmediato en ensayos.

Variable dependiente:

Nombre: Efecto antimicótico frente a *C. albicans*.

Definición operativa: Respuesta biológica observado en cultivos de *C. albicans* (ATCC 10231) tras la exposición al EHSM, cuantificada mediante la inhibición del crecimiento fúngico en pruebas *in vitro*.

Dimensión: Inhibición del crecimiento micótico.

Indicador: Diámetro del halo de inhibición (mm) en el método de difusión y/o valores de CMI (mg/mL o %) y CMF (mg/mL o %) determinados mediante macrodilución en caldo.

Categorías/Gradientes:

- Halo de inhibición (mm): valor continuo obtenido mediante el método de difusión en agar.
- Concentración mínima inhibitoria (CMI): menor concentración del extracto (mg/mL) que inhibe el crecimiento visible de *Candida albicans*.
- Concentración mínima fungicida (CMF): menor concentración del extracto (mg/mL) que produce efecto fungicida, confirmada mediante subcultivo.

Los diámetros de los halos de inhibición se analizaron como valores cuantitativos expresados en milímetros. Debido a que no existen puntos de corte clínicos estandarizados para interpretar la actividad de extractos vegetales frente a *C. albicans*, los halos de inhibición se compararon entre las concentraciones experimentales y los controles incluidos en el estudio. La CMI y la CMF se expresaron en mg/mL y correspondieron a las menores concentraciones del extracto en las que se evidenció inhibición del crecimiento y efecto fungicida, respectivamente. En consecuencia, estos resultados se interpretaron experimentalmente y no mediante categorías clínicas de sensibilidad o resistencia (CLSI, 2017; Gonzalez-Pastor et al., 2023).

Escala: Cuantitativa continua (intervalo/razón).

Unidad: Milímetros (mm) y/o miligramos por mililitro (mg/mL).

Instrumentos y equipos:

- Tubos de ensayo estériles para macrodilución en caldo Sabouraud dextrosa.
- Placas Petri con agar Sabouraud dextrosa (SDA).
- Micropipetas automáticas calibradas (con puntas estériles).
- Espectrofotómetro UV-Vis y regla/vernier para medir halos.

Técnicas:

- Ensayo de difusión en agar (método de pozos) en SDA para medir halos de inhibición.
- Ensayo de macrodilución en caldo Sabouraud dextrosa en tubos de ensayo para determinar la CMI/CMF, siguiendo las recomendaciones generales del CLSI M27 adaptadas a extractos vegetales.

Procedimiento de medición:

Difusión: Se aplicó el extracto en pozos hecho en el agar Sabouraud con inóculo estandarizado de *C. albicans* (0,5 McFarland); las placas se incubaron a 35 °C durante 24 h; Se midió el halo con calibrador digital.

Los diámetros de los halos de inhibición fueron cuantificados utilizando un calibrador digital con precisión de 0,01 mm. Cada medición se realizó por duplicado y para el procesamiento estadístico se tomó en cuenta el promedio de ambas lecturas, con el fin de reducir el error de medición y mejorar la precisión de los resultados.

Macrodilución en caldo: Las suspensiones fúngicas fueron expuestas a diluciones seriadas del extracto en tubos con caldo Sabouraud dextrosa; se realizó la lectura visual o espectrofotométrica del crecimiento; se determinaron la CMI (mínima concentración sin turbidez visible) y CMF (mínima concentración sin crecimiento en subcultivo).

Tabla 1. Variables de estudio

Variable	Dimensión	Indicador	Definición operativa	Escala de medición	Unidad de medida
Variable independiente: Extracto hidroalcohólico de <i>Schinus molle</i> L. (EHSM)	Concentración del extracto	Concentración del EHSM	Concentraciones del extracto hidroalcohólico de hojas y frutos de <i>Schinus molle</i> L. preparadas para los ensayos antimicóticos.	Cuantitativa de razón	%, mg/mL
Variable dependiente: Efecto antimicótico frente a <i>Candida albicans</i> ATCC 10231	Inhibición del crecimiento	Halo de inhibición	Diámetro de la zona libre de crecimiento alrededor del pozo con extracto en agar Sabouraud dextrosa.	Cuantitativa de razón	mm
		Concentración mínima inhibitoria (CMI)	Menor concentración del extracto que inhibe el crecimiento visible de <i>Candida albicans</i> mediante macrodilución en caldo.	Cuantitativa de razón	mg/mL
	Efecto fungicida	Concentración mínima fungicida (CMF)	Menor concentración del extracto que produce efecto fungicida, confirmada mediante subcultivo en agar Sabouraud dextrosa.	Cuantitativa de razón	mg/mL

3.3. Diseño experimental

Para evaluar el efecto antimicótico mediante difusión en agar, se evaluaron el extracto hidroalcohólico de *S. molle* en cuatro niveles de concentración (25 %, 50 %, 75 % y 100 %), además de un control positivo y un negativo. Cada condición experimental se evaluó por triplicado. El ensayo completo se realizó en tres ocasiones independientes, en días distintos y utilizando subcultivos frescos de *C. albicans* ATCC 10231. De esta manera, se consiguieron nueve observaciones por cada condición experimental. El empleo de réplicas y la repetición independiente de los ensayos permitió evaluar la consistencia de los hallazgos y disminuir la influencia de la variabilidad experimental (CLSI, 2017).

Para la cuantificación de la CMI y la CMF, se empleó el método de macrodilución. Cada concentración evaluada se procesó por triplicado y el ensayo completo se realizó en tres ocasiones independientes, en días distintos y utilizando subcultivos frescos de *C. albicans* ATCC 10231. Por consiguiente, se obtuvieron nueve observaciones por cada condición experimental. La CMI correspondió a la menor concentración en la que no se evidenció crecimiento visible, mientras que la CMF se estableció mediante el subcultivo de las concentraciones sin crecimiento, de acuerdo con el procedimiento experimental establecido.

Debido al número limitado de repeticiones experimentales y al empleo de una única cepa de referencia, los resultados fueron interpretados como evidencia experimental específica para *Candida albicans* ATCC 10231, sin extrapolación directa a otras cepas clínicas de *Candida albicans*.

3.3.1. Tipo de investigación

Fue de tipo básico, ya que estuvo orientado a generar conocimiento científico sobre la capacidad antifúngica *in vitro* del extracto hidroalcohólico de *S. molle* L. contra *C. albicans* ATCC 10231, sin perseguir de manera inmediata una aplicación clínica o tecnológica. La investigación buscó ampliar la evidencia acerca de las capacidades biológicas de esta especie vegetal por medio de condiciones experimentales controladas, contribuyendo a la obtención de conocimiento en el ámbito de la microbiología y la farmacognosia.

3.3.2. Diseño de la investigación

Se aplicó un diseño experimental *in vitro*, debido a que se manipuló deliberadamente la concentración del extracto hidroalcohólico de *S. molle* L. y se evaluó su efecto sobre *C. albicans* ATCC 10231 bajo condiciones controladas de

laboratorio. Se establecieron como grupos experimentales las diferentes concentraciones del extracto y se incluyeron fluconazol 25 µg (Oxoid®) como control positivo y DMSO al 2 % como control negativo (vehículo), manteniéndose estandarizadas las condiciones de cultivo, inoculación e incubación. La asignación de las réplicas a las diferentes concentraciones del extracto se realizó mediante una secuencia de números aleatorios generada en Microsoft Excel. Con base en esta secuencia, se estableció el orden de preparación, inoculación y procesamiento de las placas y tubos experimentales para cada corrida biológica, con el propósito de minimizar posibles sesgos derivados del orden de ejecución de los ensayos. El investigador encargado de medir los halos de inhibición desconocía la concentración del extracto aplicada en cada placa. Para ello, las placas fueron codificadas previamente mediante un sistema alfanumérico, de modo que la lectura de los resultados se efectuó sin conocer la asignación de los tratamientos, reduciendo el riesgo de sesgo de observación. La variable dependiente fue el efecto antimicótico, evaluada mediante el diámetro del halo de inhibición (mm) y la cuantificación de la CMI y la CMF, expresadas en mg/mL, por medio del procedimiento de difusión en agar y macrodilución en caldo Sabouraud dextrosa.

3.3.3. Técnicas de procesamiento y análisis de datos

Todos los procesos estadísticos se ejecutaron con un nivel de significancia de $\alpha = 0,05$. Inicialmente, se evaluó la distribución de los datos por medio del test de normalidad de Shapiro-Wilk. Debido al bajo número muestral por grupo y al corroborar el comportamiento no paramétrico de la data, se utilizaron procedimientos no paramétricos para el análisis inferencial.

Los halos de inhibición se resumieron mediante media $\pm$ desviación estándar y mediana con rango intercuartílico, según correspondiera. Para evaluar las diferencias entre las concentraciones del extracto hidroalcohólico de *S. molle* L. y los controles, se aplicó el test de Kruskal-Wallis. Ante la presencia de diferencias estadísticamente significativas, se utilizó el test de Dunn como procesamiento post hoc, empleando el ajuste de Holm para las comparaciones múltiples. Asimismo, las disparidades en el efecto antimicótico entre los extractos obtenidos de hojas y frutos fueron evaluadas, para cada concentración estudiada, mediante el test U de Mann-Whitney.

La CMI y la CMF se cuantificaron experimentalmente mediante el método de macrodilución en caldo y subcultivo en agar Sabouraud dextrosa, respectivamente, reportándose las concentraciones correspondientes en mg/mL.

Software. Los análisis se realizaron en Stata 18. Referencia: StataCorp LLC. (2023). Stata Statistical Software: Release 18. College Station, TX: StataCorp LLC.

3.4. Población y muestra

Población: La cepa de referencia *C. albicans* ATCC 10231 (American Type Culture Collection), certificada por el Área de Microbiología del Laboratorio de Análisis Clínico del Hospital de Apoyo Cangallo, cuya constancia de autenticidad se presenta en el Anexo 7.

Muestra: Estuvo conformada por los cultivos de la cepa de referencia *C. albicans* ATCC 10231 utilizados en las diferentes condiciones experimentales. Cada condición se evaluó por triplicado y el ensayo se realizó en tres ocasiones independientes, de acuerdo con el diseño experimental establecido.

Unidad de análisis: Estuvo constituida por cada unidad experimental de cultivo de *C. albicans* ATCC 10231 expuesta a una condición específica del ensayo. En la prueba de difusión en agar, correspondió a cada placa inoculada y tratada con una concentración del extracto o control; mientras que, en los ensayos de macrodilución para la determinación de la CMI y CMF, correspondió a cada tubo inoculado y sometido a la concentración experimental correspondiente.

Criterios de inclusión

- Cepa de referencia *C. albicans* ATCC 10231 certificada.
- Subcultivos recientes (≤ 5 pases desde el vial original), conservados adecuadamente ($-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ o crioviales) y con crecimiento típico.

Criterios de exclusión

- Cultivos de la cepa *C. albicans* ATCC 10231 con contaminación polimicrobiana.
- Cultivos con crecimiento atípico que impida la estandarización del inóculo.
- Viales o subcultivos con registros de conservación incompletos o caducados.

3.5. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

3.5.1. Identificación botánica y voucher

El material vegetal (*S. molle* L.) fue identificado por un botánico calificado; se depositó un espécimen de referencia (voucher) en el Herbario “Herbarium Huamanguensis” de la UNSCH (código y acrónimo correspondiente), registrando coordenadas de colecta, fecha, órgano vegetal, estado de madurez y responsable. El código de voucher constó en el informe final.

3.5.2. Preparación del EHSM

Las hojas y frutos maduros de *S. molle* L. se recolectaron, identificaron botánicamente y se sometieron a secado a temperatura ambiente. Posteriormente, se pulverizaron y se maceraron en una solución hidroalcohólica (etanol: agua 70:30) durante 7 días, con agitación periódica. El filtrado se concentró en un rotavapor a <40 °C para eliminar el solvente y obtener el extracto crudo, que fue almacenado en frascos ámbar a 4 °C hasta su uso (Loyola et al., 2020).

Todo el proceso de obtención del extracto hidroalcohólico se realizó en los laboratorios de la Facultad de Ciencias Biológicas de la UNSCH.

3.5.3. Control de calidad del extracto

Se registró rendimiento de extracción (% p/p) respecto a la droga seca. Se determinaron:

- Fenólicos totales (Folin–Ciocalteu), expresados como mg de equivalentes de ácido gálico (mg EAG/g extracto).
- Flavonoides totales (método AlCl_3), como mg de equivalentes de quercetina (mg EQ/g).
- Perfil fitoquímico cualitativo (tamizaje: fenoles, flavonoides, taninos, saponinas, terpenoides).

Estos procedimientos se ejecutaron en el Laboratorio de Bromatología y Fitoquímica de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la UNSCH, siguiendo protocolos estandarizados de espectrofotometría y tamizaje fitoquímico.

- **Parámetros fisicoquímicos:** densidad aparente, pH del stock y verificación de solvente residual (evaporación completa en rotavapor <40 °C y secado en estufa suave).

- **Estandarización de lote:** todas las corridas biológicas usaron el mismo lote; si hubiera más de un lote, se documentó su TPT y TFT para comparar consistencia. El extracto se almacenó en frasco ámbar a 4 °C y se usó dentro de 30 días.

3.5.4. Tamizaje fitoquímico cualitativo

Se realizó un tamizaje estándar sobre el extracto crudo (y, opcionalmente, fracciones) para fenoles, flavonoides, taninos, saponinas y terpenoides. Estos resultados se correlacionaron con el efecto antimicótico (halos, CMI/CMF) para explorar relaciones extracto-perfil químico-efecto (Ndezo Bisso et al., 2022).

3.5.5. Cultivo e inoculación de *C. albicans*

Se utilizó una cepa ATCC 10231 de *Candida albicans*. Las levaduras se mantuvieron en agar Sabouraud dextrosa (SDA) e incubadas a 35 ± 2 °C durante 24–48 h. El inóculo se estandarizó a 0,5 de la escala McFarland ($\approx 1-5 \times 10^6$ UFC/mL) para los ensayos de difusión en agar y a $0,5-2,5 \times 10^3$ células/mL para los ensayos de macrodilución en caldo, siguiendo las recomendaciones generales del CLSI M27 adaptadas al uso de caldo Sabouraud dextrosa (Ellepola et al., 2016).

Previamente al desarrollo de los ensayos experimentales, se verificó el comportamiento de los controles incluidos en el estudio. El control positivo, fluconazol 25 µg, presentó halos promedio de inhibición de $30,72 \pm 0,50$ mm en los ensayos correspondientes al extracto de hojas y de $30,82 \pm 0,82$ mm en los correspondientes al extracto de frutos. Por su parte, el control negativo, DMSO al 2 %, no presentó efecto antimicótico. Estos resultados permitieron verificar el comportamiento esperado de los controles y respaldaron la adecuada ejecución de los ensayos de difusión en agar.

Todos los ensayos se realizaron bajo condiciones ambientales controladas en el laboratorio, con una temperatura de 24 ± 2 °C. La incubación de las placas y tubos se efectuó a una temperatura de 35 ± 2 °C durante el tiempo establecido para cada ensayo, con el fin de mantener uniformes las condiciones experimentales.

Todos los procedimientos microbiológicos descritos en esta sección y en las secciones posteriores fueron realizados en el Centro Médico Señal de Vida, utilizando las instalaciones, equipos y condiciones de bioseguridad disponibles en dicho establecimiento.

3.5.6. Evaluación del efecto antimicótico mediante difusión en agar

El efecto antimicótico del extracto hidroalcohólico de *S. molle* L. se evaluó mediante el método de difusión en agar. Para ello, se inocularon uniformemente placas con agar Sabouraud dextrosa (SDA) utilizando un hisopo estéril impregnado con la suspensión de *C. albicans* ATCC 10231 previamente estandarizada a 0,5 de la escala de McFarland. Posteriormente, se hicieron pozos donde se agregaron las distintas concentraciones del extracto hidroalcohólico (25%, 50%, 75% y 100%), además del control positivo (fluconazol 25 µg, Oxoid®) y del control negativo (DMSO al 2%). Las placas se incubaron a 35 ± 2 °C durante 24 horas.

Culminado el tiempo de incubación, se determinó el efecto antimicótico por medio de la cuantificación del diámetro de los halos de inhibición, expresado en milímetros (mm), de acuerdo con los principios metodológicos de los ensayos de difusión en agar (Gonzalez-Pastor et al., 2023). Los diámetros de los halos fueron medidos empleando un calibrador digital con resolución de 0,01 mm. Cada halo se midió por duplicado y, para el análisis estadístico, se empleó el promedio de ambas mediciones, con el propósito de reducir la variabilidad asociada a la medición. Cada concentración del extracto y los controles fueron evaluados por triplicado, y el ensayo completo se realizó en tres ocasiones independientes, en días distintos y utilizando subcultivos frescos de *Candida albicans* ATCC 10231.

3.5.7. Determinación de la CMI por el método de macrodilución en tubos y siembra en agar

Para realizar las diluciones, se dispusieron 15 tubos de ensayo previamente esterilizados, cada uno con 1 mL de solución salina fisiológica al 0,9 %. En el primer tubo se incorporó 1 mL del extracto hidroalcohólico concentrado y, a partir de esta mezcla, se efectuaron diluciones seriadas en proporción 1:2. Para ello, se transfirió sucesivamente 1 mL de cada preparación al tubo siguiente hasta alcanzar el tubo N.º 14. Finalmente, se retiró 1 mL del último tubo con la finalidad de conservar el mismo volumen en todas las diluciones. El tubo N.º 15 se utilizó como control sin extracto. El empleo de diluciones seriadas en caldo permite evaluar concentraciones decrecientes del agente ensayado para determinar la CMI (CLSI, 2017).

Luego, se adicionó 0,1 mL del inóculo de *C. albicans* ATCC 10231, ajustado a una turbidez equivalente a 0,5 de la escala de McFarland, en cada uno de los tubos.

Los tubos fueron incubados a 35 ± 2 °C durante 24 horas. La CMI se determinó identificando la menor concentración del extracto hidroalcohólico en la que no se observó crecimiento visible o turbidez en el caldo de cultivo, en comparación con el control de crecimiento (Rodríguez-Tudela et al., 1996).

3.5.8. Determinación de la CMF por el método de macrodilución en tubos y siembra en agar

Para la determinación de la CMF, se seleccionaron los tubos que presentaron ausencia o mínima turbidez visible en el ensayo de macrodilución. Posteriormente, se tomaron alícuotas de 100 µL de cada tubo y se sembraron en placas con agar Sabouraud dextrosa (SDA), realizando la extensión mediante una espátula de Drigalski. Las placas se incubaron a 35 ± 2 °C durante 24 horas.

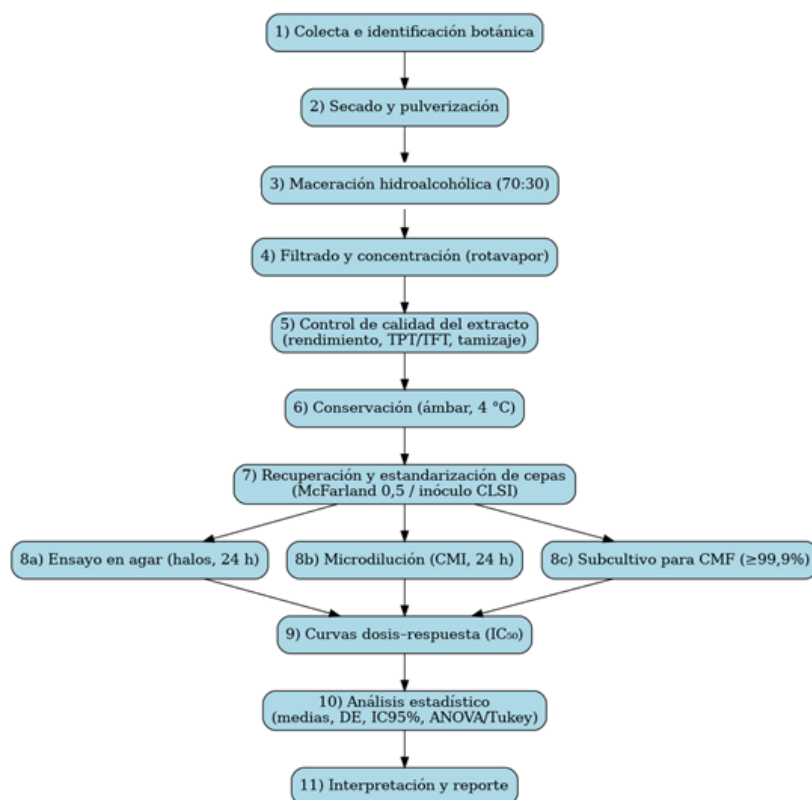
La CMF se definió como la menor concentración del extracto hidroalcohólico de *S. molle* L. en la que no se observó crecimiento de *C. albicans* ATCC 10231 después del subcultivo en agar Sabouraud dextrosa, indicando la ausencia de células fúngicas viables bajo las condiciones experimentales establecidas (Rodríguez-Tudela et al., 1996).

3.5.9. Comparación con Fluconazol

El Fluconazol se empleó como control positivo en todas las pruebas (concentraciones estandarizadas según CLSI), mientras que DMSO o etanol en la máxima concentración empleada fue el control negativo. Los resultados del extracto se compararon cuantitativamente con los obtenidos con Fluconazol (Esmaeili et al., 2025).

Se incluyeron en cada corrida: control positivo (Fluconazol de 25 µg (Oxoid®), concentración según CLSI), control negativo de solvente y control de crecimiento (sin extracto/antifúngico). Las placas no conformes (contaminación, control fuera de rango) se descartaron y repitieron. Se emplearon hojas de vida de lote (extracto y medios), checklist pre-ensayo y doble digitación de datos (Córdoba et al., 2019).

Figura 2. Flujograma de trabajo



Nota: Elaboración propia.

3.5.10. Aspectos éticos

El protocolo fue presentado para revisión y pronunciamiento del CIEI-UNSCH antes del inicio experimental. Al tratarse de un estudio *in vitro* realizado exclusivamente con la cepa de referencia *C. albicans* ATCC 10231, sin participación de personas ni uso de datos o muestras biológicas identificables, se consideró una investigación sin riesgo para seres humanos, por lo que no requirió consentimiento informado. Aun así, se observaron los principios éticos internacionales aplicables a la investigación en salud, tales como los lineamientos de la Declaración de Helsinki (“World Medical Association Declaration of Helsinki,” 2013) y las Pautas Internacionales CIOMS (2016) (International Ethical Guidelines for Health-Related Research Involving Humans, 2016), en lo referido a valor social, validez científica, revisión independiente y manejo responsable de materiales biológicos.

El trabajo se realizó bajo condiciones de bioseguridad BSL-2, utilizando cabina de bioseguridad certificada, equipo de protección personal y procedimientos estandarizados de desinfección y eliminación de residuos. Se mantuvo la trazabilidad de los cultivos, reactivos y actividades mediante registros auditables. Asimismo, las actividades experimentales se desarrollaron conforme a las buenas prácticas de laboratorio y a las recomendaciones de bioseguridad para laboratorios microbiológicos descritas en el Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL, 6th ed.) de los Centers for Disease Control and Prevention (CDC) y los National Institutes of Health (NIH).

Todos los materiales contaminados con *Candida albicans*, incluidos tubos de ensayo, placas de cultivo, puntas de micropipeta y demás material descartable, fueron esterilizados mediante autoclave a 121 °C durante 15 minutos antes de su eliminación, siguiendo las normas de bioseguridad para laboratorios de microbiología y los procedimientos establecidos por la institución.

3.5.11. Reproducibilidad del estudio

Todos los procedimientos experimentales, incluyendo la preparación del extracto hidroalcohólico, el cultivo e inoculación de *Candida albicans*, los ensayos de difusión en agar, la determinación de la CMI y la CMF, así como el procesamiento y análisis de los datos, fueron documentados de manera detallada con el propósito de garantizar la reproducibilidad del estudio y facilitar su replicación por otros investigadores bajo condiciones experimentales similares.

IV. RESULTADOS

Tabla 2.

Rendimiento del extracto hidroalcohólico de hojas y frutos de Schinus molle L. "molle".

Material vegetal	Peso fresco (kg)	Peso seco (kg)	Extracto obtenido (g)	Rendimiento (%)
Hojas	2,5	0,56	31,11	5,55
Frutos	2,5	0,85	44,72	5,26

Tabla 3.

Tamizaje fitoquímico cualitativo del extracto hidroalcohólico de Schinus molle L.

Metabolito secundario	Hojas	Frutos
Flavonoides	Positivo (+)	Positivo (+)
Fenoles	Positivo (+)	Positivo (+)
Saponinas	Positivo (+)	Positivo (+)
Terpenoides	Positivo (+)	Positivo (+)

Tabla 4.

Efecto antimicótico del extracto hidroalcohólico de hojas de Schinus molle L.

frente a Candida albicans ATCC 10231

Concentración	Réplica 1 (mm)	Réplica 2 (mm)	Réplica 3 (mm)	Media $\pm$ DE (mm)
25%	10,14	11,03	10,52	10,56 $\pm$ 0,45
50%	15,21	16,05	15,87	15,71 $\pm$ 0,44
75%	19,15	19,98	18,91	19,35 $\pm$ 0,56
100%	23,26	24,03	23,87	23,72 $\pm$ 0,41
Control positivo	31,08	30,15	30,92	30,72 $\pm$ 0,50

Tabla 5.

Efecto antimicótico del extracto hidroalcohólico de frutos de Schinus molle L.

frente a Candida albicans ATCC 10231

Concentración	Réplica 1 (mm)	Réplica 2 (mm)	Réplica 3 (mm)	Media $\pm$ DE (mm)
25%	11,24	12,05	12,56	11,95 $\pm$ 0,67
50%	15,62	16,24	16,51	16,12 $\pm$ 0,46
75%	19,53	20,32	19,97	19,94 $\pm$ 0,40
100%	24,91	26,03	25,61	25,52 $\pm$ 0,57
Control positivo	30,01	31,65	30,81	30,82 $\pm$ 0,82

Tabla 6.

Comparación del efecto antimicótico entre hojas y frutos de Schinus molle L.

Concentración	Hojas Media $\pm$ DE (mm)	Frutos Media $\pm$ DE (mm)	Diferencia a favor de frutos (mm)
25%	10,56 $\pm$ 0,45	11,95 $\pm$ 0,67	1,39
50%	15,71 $\pm$ 0,44	16,12 $\pm$ 0,46	0,41
75%	19,35 $\pm$ 0,56	19,94 $\pm$ 0,40	0,59
100%	23,72 $\pm$ 0,41	25,52 $\pm$ 0,57	1,80
Control positivo	30,72 $\pm$ 0,50	30,82 $\pm$ 0,82	0,11

Tabla 7.

Clasificación del efecto antimicótico según diámetro del halo de inhibición

Material vegetal	Concentración	Halo promedio (mm)	Clasificación
Hojas	25%	10,56	Inhibición moderada
Hojas	50%	15,71	Inhibición marcada
Hojas	75%	19,35	Inhibición marcada
Hojas	100%	23,72	Inhibición marcada
Frutos	25%	11,95	Inhibición moderada
Frutos	50%	16,12	Inhibición marcada
Frutos	75%	19,94	Inhibición marcada
Frutos	100%	25,52	Inhibición marcada

Nota. La clasificación del efecto antimicótico se realizó según el diámetro promedio del halo de inhibición: <10 mm, actividad débil; 10–15 mm, actividad moderada; y >15 mm, actividad fuerte (Ali Al-Maqtari et al., 2019).

Los valores corresponden al promedio de los halos de inhibición obtenidos experimentalmente.

Figura 3.

Ensayo de difusión en agar para la evaluación del efecto antimicótico del extracto hidroalcohólico de hojas de Schinus molle L. frente a Candida albicans ATCC 10231.



Figura 4.

Ensayo de difusión en agar para la evaluación del efecto antimicótico del extracto hidroalcohólico del fruto de Schinus molle L. frente a Candida albicans ATCC 10231.

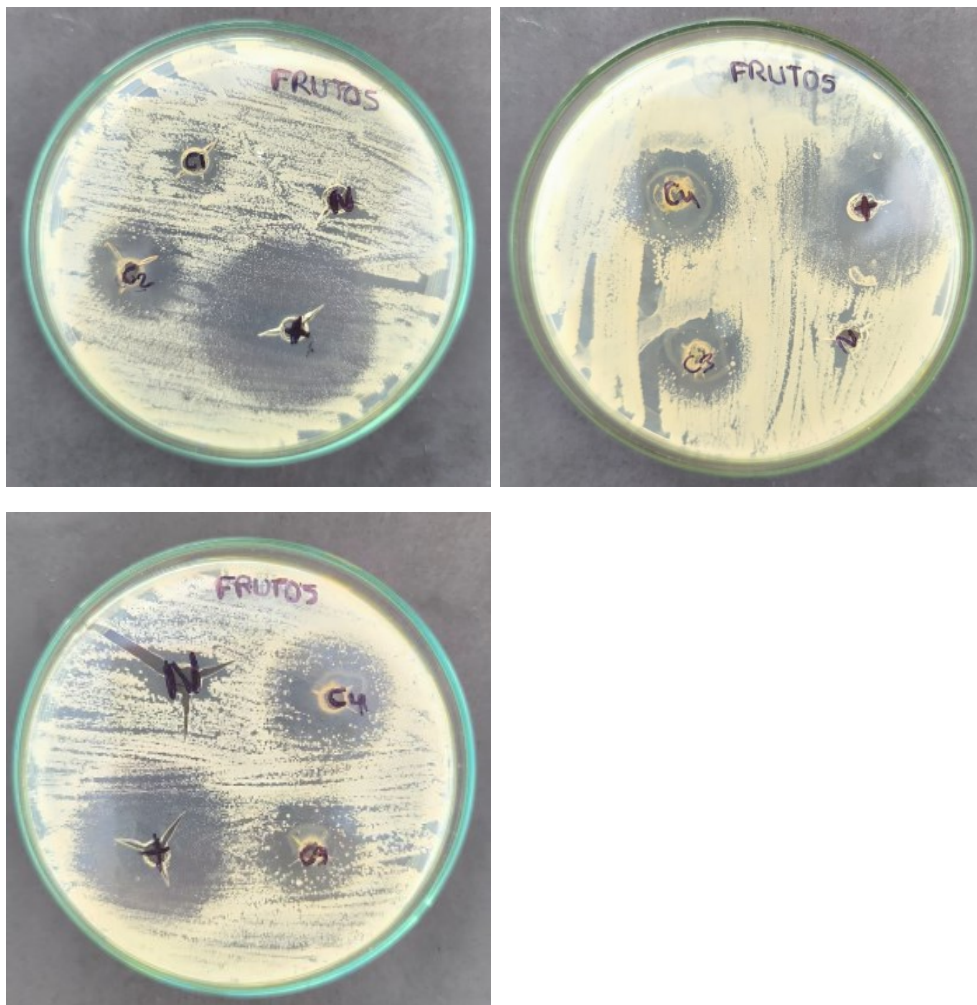


Tabla 8.*Prueba de normalidad de Shapiro-Wilk para los halos de inhibición*

Grupo evaluado	Estadístico W	p
Hojas 25%	0,99294	0,839
Hojas 50%	0,90184	0,391
Hojas 75%	0,90798	0,411
Hojas 100%	0,89779	0,378
Hojas control positivo	0,87458	0,309
Frutos 25%	0,98307	0,751
Frutos 50%	0,95098	0,574
Frutos 75%	0,99569	0,875
Frutos 100%	0,97959	0,726
Frutos control positivo	0,9998	0,973

Tabla 9.

Comparación de los halos de inhibición del extracto hidroalcohólico de hojas de Schinus molle L. frente a Candida albicans ATCC 10231 mediante la prueba de Kruskal-Wallis

Grupo	n	Mediana (RIQ)	Suma de rangos
Control positivo (C+)	3	30,92 (0,93)	42
25% (C1)	3	10,52 (0,89)	6
50% (C2)	3	15,87 (0,84)	15
75% (C3)	3	19,15 (1,07)	24
100% (C4)	3	23,87 (0,77)	33
Estadístico			Valor
χ^2			13,5
gl			4
p			0,009

Tabla 10.

Comparación de los halos de inhibición del extracto hidroalcohólico de frutos de Schinus molle L. frente a Candida albicans ATCC 10231 mediante la prueba de Kruskal-Wallis

Grupo	n	Mediana (RIQ)	Suma de rangos
Control positivo (C+)	3	30,81 (1,64)	42
25% (C1)	3	12,05 (1,32)	6
50% (C2)	3	16,24 (0,89)	15
75% (C3)	3	19,97 (0,79)	24
100% (C4)	3	25,61 (1,12)	33
Estadístico			Valor
χ^2			13,5
gl			4
p			0.009

Tabla 11.

Comparaciones múltiples post hoc de Dunn para los halos de inhibición del extracto hidroalcohólico de hojas de Schinus molle L.

Comparación	Z	p ajustado (Holm)	Significancia
C1 vs C2	-0,822	0,411	No significativa
C1 vs C3	-1,643	0,351	No significativa
C1 vs C4	-2,465	0,055	No significativa
C1 vs C+	-3,286	0,005	Significativa
C2 vs C3	-0,822	0,206	No significativa
C2 vs C4	-1,643	0,251	No significativa
C2 vs C+	-2,465	0,062	No significativa
C3 vs C4	-0,822	0,823	No significativa
C3 vs C+	-1,643	0,301	No significativa
C4 vs C+	-0,822	0,617	No significativa

Tabla 12.

Comparaciones múltiples post hoc de Dunn para los halos de inhibición del extracto hidroalcohólico de frutos de Schinus molle L.

Comparación	Z	p ajustado (Holm)	Significancia
C1 vs C2	-0,822	0,411	No significativa
C1 vs C3	-1,643	0,351	No significativa
C1 vs C4	-2,465	0,055	No significativa
C1 vs C+	-3,286	0,005	Significativa
C2 vs C3	-0,822	0,617	No significativa
C2 vs C4	-1,643	0,301	No significativa
C2 vs C+	-2,465	0,062	No significativa
C3 vs C4	-0,822	0,206	No significativa
C3 vs C+	-1,643	0,251	No significativa
C4 vs C+	-0,822	0,823	No significativa

Tabla 13.

Comparación de los halos de inhibición entre hojas y frutos de Schinus molle L.

frente a Candida albicans ATCC 10231 mediante la prueba U de Mann-Whitney

Concentración	Hojas Mediana (RIQ)	Frutos Mediana (RIQ)	z	p	Interpretación
25%	10,52 (0,89)	12,05 (1,32)	1,964	0,05	Significativa
50%	15,87 (0,84)	16,24 (0,89)	1,091	0,28	No significativa
75%	19,15 (1,07)	19,97 (0,79)	1,091	0,28	No significativa
100%	23,87 (0,77)	25,61 (1,12)	1,964	0,05	Significativa
Control positivo	30,92 (0,93)	30,81 (1,64)	-0,22	0,83	No significativa

Figura 5.

Estimación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) y concentración mínima fungicida (CMF) según el efecto antimicótico del extracto hidroalcohólico de Schinus molle L. a diferentes concentraciones, mostrando una tendencia de inhibición y crecimiento de Candida albicans ATCC 10231

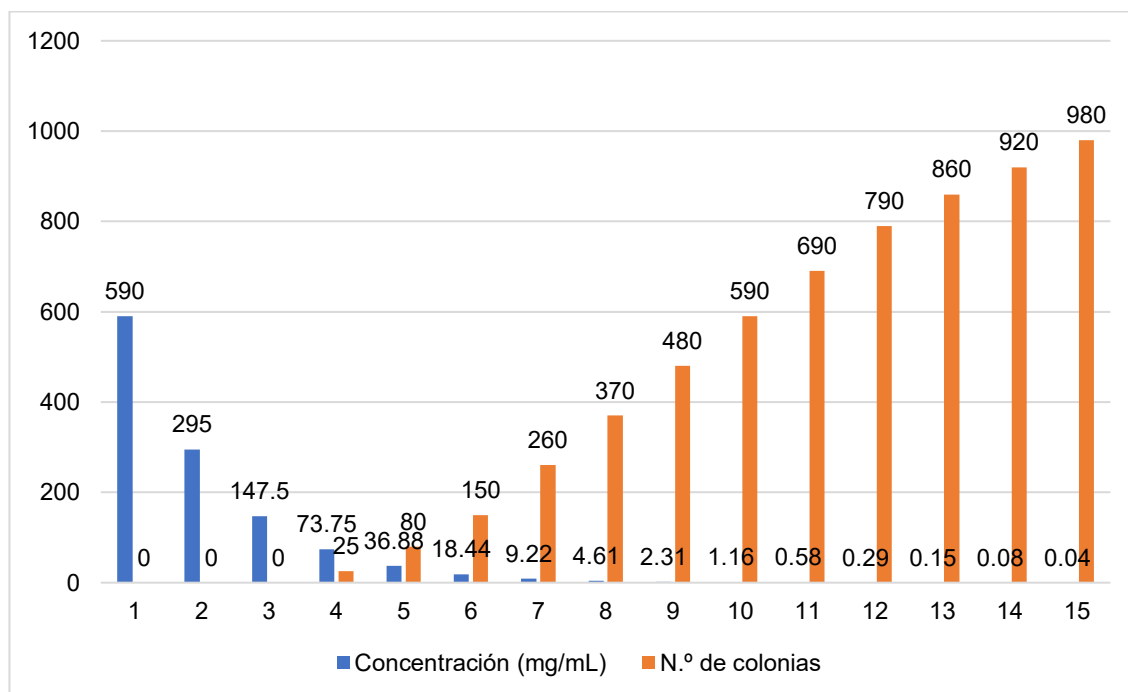


Figura 6.

Determinación de la concentración mínima fungicida (CMF) del extracto hidroalcohólico de frutos de *Schinus molle* L. mediante macrodilución y subcultivo en agar Sabouraud dextrosa frente a *Candida albicans* ATCC 10231

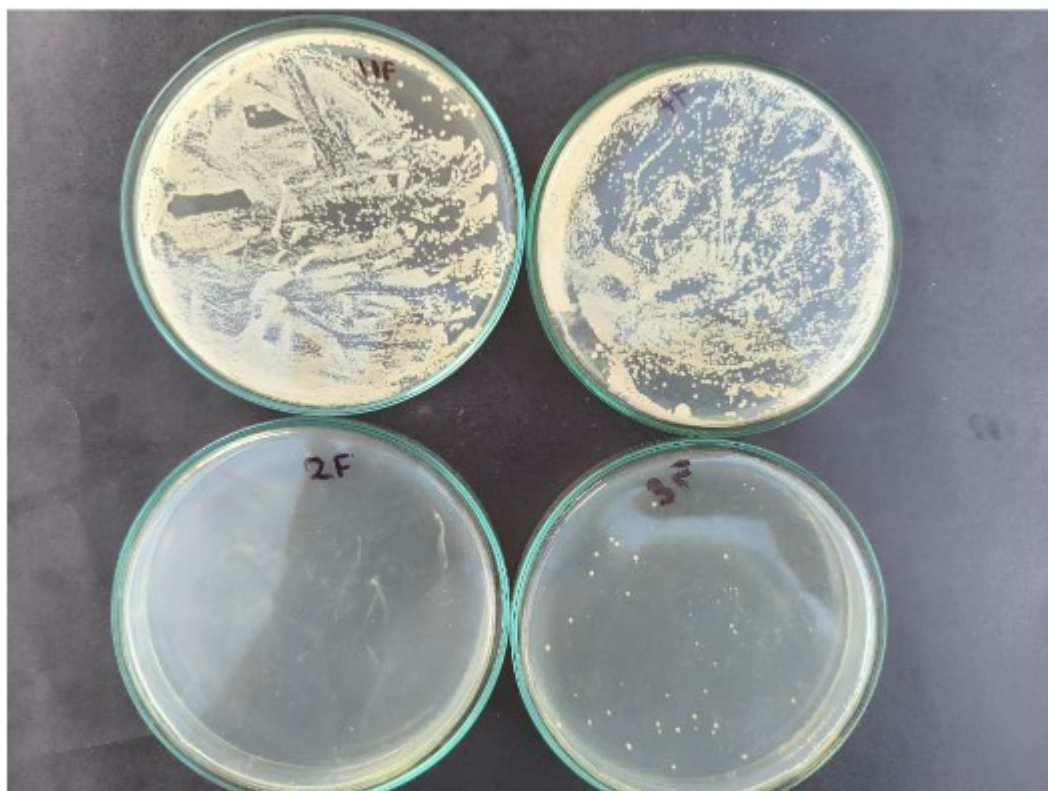


Figura 7.

Determinación de la concentración mínima fungicida (CMF) del extracto hidroalcohólico de hojas de Schinus molle L. mediante macrodilución y subcultivo en agar Sabouraud dextrosa frente a Candida albicans ATCC 10231

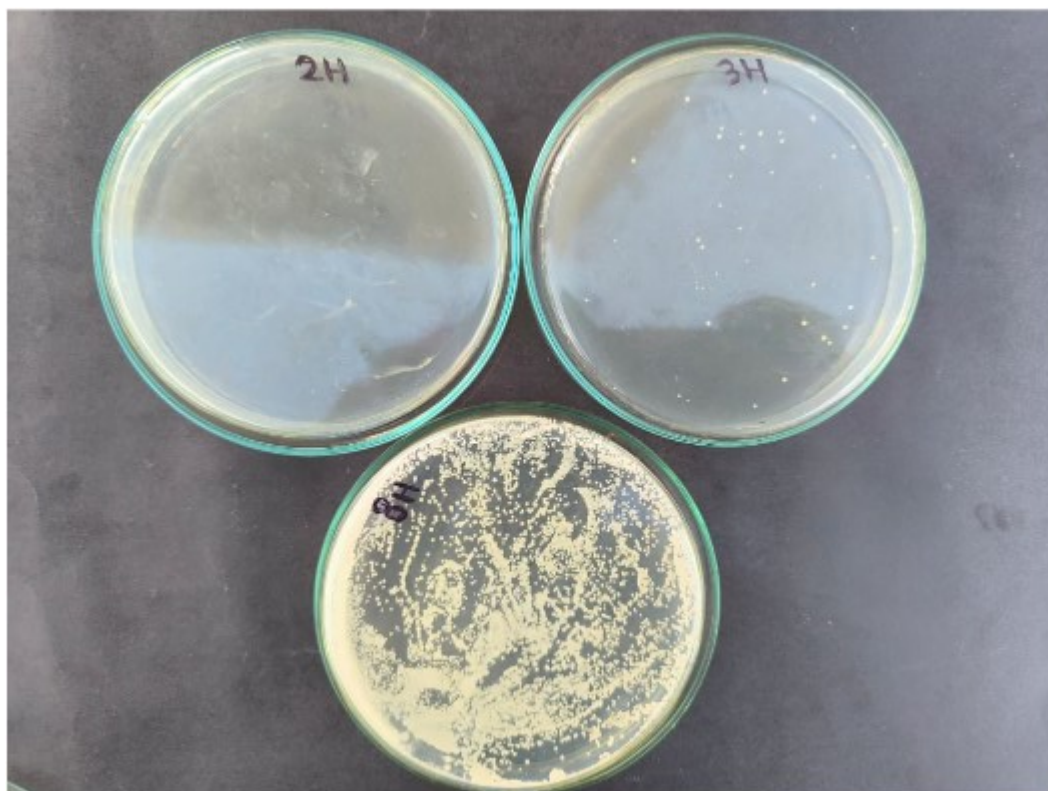


Tabla 14.

*Concentración mínima inhibitoria del extracto hidroalcohólico de Schinus molle L.
frente a Candida albicans ATCC 10231*

Material vegetal	Tubo	Concentración (mg/mL)
Hojas	3H	147,5
Frutos	3F	147,5

Tabla 15.

*Concentración mínima fungicida del extracto hidroalcohólico de Schinus molle L.
frente a Candida albicans ATCC 10231*

Material vegetal	Tubo	Concentración (mg/mL)
Hojas	3H	295
Frutos	3F	295

V. DISCUSIÓN

Los hallazgos de la Tabla 2 evidencian que el rendimiento del extracto hidroalcohólico fue de 5,55 % en el caso de las hojas, mientras que los frutos de *S. molle* L. alcanzaron un rendimiento de 5,26 %, evidenciándose un rendimiento ligeramente mayor en las hojas. Estas diferencias pueden estar relacionadas con las características propias de cada órgano vegetal, su contenido de humedad y la proporción de sustancias solubles recuperadas mediante la extracción hidroalcohólica. El empleo de una mezcla etanol-agua favorece la extracción de metabolitos de diferente polaridad y permite obtener perfiles fitoquímicos amplios, aunque el rendimiento y la composición final pueden variar según las características de la matriz vegetal y las características del procedimiento de extracción (Dhanani et al., 2017).

En la Tabla 3, el tamizaje fitoquímico cualitativo evidenció la existencia de flavonoides, fenoles, saponinas y terpenoides tanto en hojas como en frutos de *S. molle*. La presencia de estos metabolitos secundarios constituye un hallazgo relevante debido a su posible relación con el efecto antimicótico observado posteriormente. Los terpenoides pueden interactuar con componentes lipídicos de las membranas celulares, mientras que los flavonoides y compuestos fenólicos presentan diversos mecanismos relacionados con la actividad antimicrobiana. Estos resultados concuerdan con Tlili et al. (2018) e İlğün et al. (2023), quienes identificaron compuestos fenólicos y flavonoides en *S. molle* relacionados con su actividad biológica.

Los resultados de las Tablas 4 y 5 evidencian un aumento progresivo del diámetro de los halos de inhibición en relación al aumentó la concentración del extracto. En las hojas, el halo promedio aumentó de $10,56 \pm 0,45$ mm al 25 % hasta $23,72 \pm 0,41$ mm al 100 %; mientras que en los frutos pasó de $11,95 \pm 0,67$ mm a $25,52 \pm 0,57$ mm, respectivamente. El control positivo con fluconazol produjo halos de $30,72 \pm 0,50$ mm en el ensayo correspondiente a hojas y $30,82 \pm 0,82$ mm en

frutos. Estos resultados muestran un comportamiento dependiente de la concentración y evidencian que, aunque el extracto presentó actividad antimicótica, los halos obtenidos fueron menores a los producidos por el control positivo. Los hallazgos son concordantes con Turchetti et al. (2020), los cuales reportaron efectos de extractos de *S. molle* frente a *C. albicans*, y con İlgün et al. (2023), quienes describieron actividad antifúngica de extractos de hojas y frutos de esta especie.

La Tabla 6 permite comparar directamente los extractos obtenidos de ambos órganos vegetales. En todas las concentraciones evaluadas, los frutos presentaron halos promedio ligeramente mayores que las hojas, con diferencias de 1,39 mm al 25 %, 0,41 mm al 50 %, 0,59 mm al 75 % y 1,80 mm al 100 %. La mayor diferencia descriptiva se presentó, por tanto, a la concentración de 100 %. Este comportamiento podría estar relacionado con disparidades en el contenido y perfil de los metabolitos secundarios presentes entre hojas y frutos. Bvenura y Kambizi (2022) señalan que la composición fitoquímica de *S. molle* puede variar según la matriz vegetal y otros factores relacionados con el material estudiado. Sin embargo, estas diferencias descriptivas deben interpretarse conjuntamente con las pruebas inferenciales realizadas.

En la Tabla 7 se presenta la clasificación de la actividad antimicótica según los diámetros de los halos de inhibición. Las concentraciones de 25 % de hojas y frutos mostraron actividad moderada, mientras que las concentraciones de 50 %, 75 % y 100 % fueron clasificadas con mayor actividad de acuerdo con el criterio adoptado. Este resultado refuerza descriptivamente la tendencia observada en las Tablas 4 y 5, según la cual el aumento de la concentración estuvo acompañado por un incremento del diámetro del halo. Aquí debe citarse expresamente en la nota y en la discusión la referencia bibliográfica definitiva utilizada para establecer los puntos de corte de esta clasificación.

Respecto al análisis estadístico, la Tabla 8 muestra que la prueba de Shapiro-Wilk presentó valores de $p > 0,05$ en todos los grupos evaluados. No obstante, considerando el reducido número de observaciones por grupo, se utilizaron pruebas no paramétricas para realizar las comparaciones inferenciales. Esta decisión permitió evitar una interpretación de la normalidad sustentada únicamente en una prueba con escasa capacidad para detectar desviaciones cuando el tamaño de los grupos es muy pequeño.

En las Tablas 9 y 10 se observa que el análisis mediante la prueba de Kruskal-Wallis evidenció disparidades relevantes entre los grupos estudiados tanto para hojas como para frutos ($\chi^2 = 13,5$; $p = 0,009$). Estos resultados indican que los halos de inhibición no presentaron el mismo comportamiento entre las diferentes condiciones experimentales. Además, las medianas muestran un incremento ordenado conforme aumentó la concentración, alcanzando los mayores valores con el control positivo.

Sin embargo, las comparaciones post hoc presentadas en las Tablas 11 y 12 permiten precisar este resultado global. Después del ajuste de Holm, únicamente la comparación entre la concentración de 25 % y el control positivo alcanzó significancia estadística (p ajustado = 0,005) tanto para hojas como para frutos. Las demás comparaciones no fueron estadísticamente significativas. Por consiguiente, aunque descriptivamente se observó un incremento progresivo de los halos conforme aumentó la concentración, debe evitarse afirmar que todas las concentraciones difirieron significativamente entre sí.

La comparación directa entre hojas y frutos presentada en la Tabla 13 mostró mayores medianas para los frutos en las cuatro concentraciones evaluadas. Las diferencias se observaron principalmente en las concentraciones extremas de 25 % y 100 %, mientras que al 50 % y 75 % no se evidenciaron diferencias estadísticamente significativas. En consecuencia, los resultados sugieren una mayor actividad relativa del extracto de frutos en determinadas concentraciones, pero no permiten afirmar que los frutos sean significativamente superiores a las hojas en todas las condiciones evaluadas.

Finalmente, las Tablas 14 y 15 muestran que la CMI fue de 147,5 mg/mL y la CMF de 295 mg/mL tanto para hojas como para frutos. La coincidencia de estos valores indica que, mediante el método empleado, ambos extractos requirieron las mismas concentraciones para alcanzar los criterios experimentales de inhibición y efecto fungicida. Estos resultados demuestran actividad frente a *C. albicans* ATCC 10231 bajo las condiciones experimentales del estudio, aunque las concentraciones requeridas fueron elevadas. La comparación con investigaciones previas debe realizarse con cautela debido a las diferencias en el tipo de extracto, solvente, composición fitoquímica y método utilizado para determinar la CMI y CMF.

En conjunto, los resultados de las Tablas 2 a 15 evidencian que el extracto hidroalcohólico de hojas y frutos de *S. molle* L. evidenció capacidad antimicótica

in vitro frente a *C. albicans* ATCC 10231, con un incremento descriptivo de los halos conforme aumentó la concentración. Los frutos mostraron halos ligeramente superiores a los de las hojas, aunque esta superioridad no fue estadísticamente uniforme en todas las concentraciones. Asimismo, ambos órganos presentaron una CMI de 147,5 mg/mL y una CMF de 295 mg/mL

VI. CONCLUSIONES

- 1 El tamizaje fitoquímico cualitativo del extracto hidroalcohólico de hojas y frutos de *S. molle* L. evidenció la presencia de flavonoides, fenoles, saponinas y terpenoides en ambos órganos vegetales, confirmando la presencia de metabolitos secundarios potencialmente relacionados con la actividad biológica del extracto.
- 2 La CMI del extracto hidroalcohólico de *S. molle* L. frente a *C. albicans* ATCC 10231 fue de 147,5 mg/mL, tanto para el extracto de hojas como para el de frutos, constituyendo la menor concentración en la que se evidenció inhibición del crecimiento bajo las condiciones experimentales del estudio.
- 3 La CMF del extracto hidroalcohólico de *S. molle* L. frente a *C. albicans* ATCC 10231 fue de 295 mg/mL tanto para hojas como para frutos, correspondiente a la menor concentración en la que no se observó crecimiento después del subcultivo.
- 4 El extracto hidroalcohólico de hojas y frutos de *Schinus molle* L. presentó efecto antimicótico frente a *C. albicans* ATCC 10231 en las concentraciones evaluadas, observándose un incremento de los halos de inhibición conforme aumentó la concentración. A la concentración de 100 %, se obtuvieron los mayores halos promedio, con $23,72 \pm 0,41$ mm para hojas y $25,52 \pm 0,57$ mm para frutos. Los frutos presentaron halos ligeramente superiores a los de las hojas; sin embargo, las diferencias entre ambos órganos vegetales no fueron estadísticamente significativas en todas las concentraciones evaluadas.

VII. RECOMENDACIONES

- 1 Realizar estudios fitoquímicos complementarios del extracto hidroalcohólico de hojas y frutos de *S. molle* L. mediante técnicas analíticas como HPLC o GC-MS, con la finalidad de identificar y cuantificar los principales metabolitos secundarios presentes en cada órgano vegetal.
- 2 Evaluar la CMI del extracto hidroalcohólico de *Schinus molle* L. frente a diferentes cepas clínicas de *C. albicans* y otras especies de *Candida*, utilizando métodos estandarizados de dilución, con la finalidad de determinar la reproducibilidad de la actividad inhibitoria observada.
- 3 Evaluar la CMF mediante subcultivo de las concentraciones inhibitorias y ampliar los ensayos a cepas clínicas, con el propósito de caracterizar con mayor precisión el efecto fungicida del extracto y establecer su comportamiento frente a diferentes aislamientos de *Candida*.
- 4 Ampliar la evaluación del efecto antimicótico del extracto hidroalcohólico de hojas y frutos de *S. molle* L. mediante un mayor número de repeticiones experimentales, concentraciones adicionales y ensayos frente a biofilms de *C. albicans*, a fin de fortalecer la reproducibilidad de los resultados y caracterizar con mayor precisión su actividad antifúngica.

REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

- Ali Al-Maqtari, Q., AL-Ansi, W., & Ali Mahdi, A. (2019). Microbial enzymes produced by fermentation and their applications in the food industry-A review. *International Journal of Agriculture Innovations and Research*, 8(1), 2319–1473.
- Aller, A. I., Martín-Mazuelos, E., Gutiérrez, M. J., Bernal, S., Chávez, M., & Recio, F. J. (2000). Comparison of the Etest and microdilution method for antifungal susceptibility testing of *Cryptococcus neoformans* to four antifungal agents. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 46(6), 997–1000. <https://doi.org/10.1093/jac/46.6.997>
- Arendrup, M. C., Cuenca-Estrella, M., Lass-Flörl, C., & Hope, W. (2012). EUCAST technical note on the EUCAST definitive document EDef 7.2: method for the determination of broth dilution minimum inhibitory concentrations of antifungal agents for yeasts EDef 7.2 (EUCAST-AFST). *Clinical Microbiology and Infection*, 18(7), E246–E247. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2012.03880.x>
- Atriwal, T., Azeem, K., Husain, F. M., Hussain, A., Khan, M. N., Alajmi, M. F., & Abid, M. (2021). Mechanistic Understanding of *Candida albicans* Biofilm Formation and Approaches for Its Inhibition. *Frontiers in Microbiology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.638609>
- Berkow, E. L., Lockhart, S. R., & Ostrosky-Zeichner, L. (2020). Antifungal Susceptibility Testing: Current Approaches. *Clinical Microbiology Reviews*, 33(3). <https://doi.org/10.1128/CMR.00069-19>
- Bvenura, C., & Kambizi, L. (2022). Composition of Phenolic Compounds in South African *Schinus molle* L. Berries. *Foods*, 11(10), 1376. <https://doi.org/10.3390/foods11101376>
- Castro Luna, A., Ramos Cevallos, N., Castillo Morales, F., Victoria Tinoco, L., Gonzáles Elera, S., Alcarraz Curi, M., Zuñiga Santi, A., Arquinigo Bazan, N., Victorio Cruz, D., Chavez Rojas, D., & Tapia Burga, Y. (2024). COMPOSICIÓN QUÍMICA, ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y ANTI-*Candida albicans* DE ACEITE ESENCIAL DE LAS HOJAS DE *Juglans neotropica*

- Diels “nogal peruano.” *Revista de La Sociedad Química Del Perú*, 90(2), 1–10. <https://doi.org/10.37761/rsqp.v90i2.464>
- Cavalheiro, M., & Teixeira, M. C. (2018). Candida Biofilms: Threats, Challenges, and Promising Strategies. *Frontiers in Medicine*, 5. <https://doi.org/10.3389/fmed.2018.00028>
- Córdoba, S., Vivot, W., Szusz, W., & Albo, G. (2019). Antifungal Activity of Essential Oils Against Candida Species Isolated from Clinical Samples. *Mycopathologia*, 184(5), 615–623. <https://doi.org/10.1007/s11046-019-00364-5>
- Czajka, K. M., Venkataraman, K., Brabant-Kirwan, D., Santi, S. A., Verschoor, C., Appanna, V. D., Singh, R., Saunders, D. P., & Tharmalingam, S. (2023). Molecular Mechanisms Associated with Antifungal Resistance in Pathogenic Candida Species. *Cells*, 12(22), 2655. <https://doi.org/10.3390/cells12222655>
- da Silva, A. S. R., Fernandes, C. C., dos Santos, D. A., Mazza, M. C. M., Silva, J. B. A., Magalhães, L. G., Pires, R. H., Miranda, M. L. D., & Crotti, A. E. M. (2024). Antileishmanial and Antifungal Activities of Volatile Oils from *Cinnamomum Cassia* Bark and *Schinus Molle* Leaves. *Chemistry & Biodiversity*, 21(9). <https://doi.org/10.1002/cbdv.202401076>
- Dhanani, T., Shah, S., Gajbhiye, N. A., & Kumar, S. (2017). Effect of extraction methods on yield, phytochemical constituents and antioxidant activity of *Withania somnifera*. *Arabian Journal of Chemistry*, 10, S1193–S1199. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2013.02.015>
- Doleski Muhd, P. S., Cuelho, C. H. F., Brondani, J. C., & Manfron, M. P. (2015). Composición química y actividad biológica del aceite esencial de *Schinus molle* L. *Revista Cubana de Farmacia*, 49(1), 31–40. https://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75152015000100013
- Ellepola, A. N. B., Samaranayake, L. P., & Khan, Z. U. (2016). Extracellular phospholipase production of oral *Candida albicans* isolates from smokers, diabetics, asthmatics, denture wearers and healthy individuals following brief

- exposure to polyene, echinocandin and azole antimycotics. *Brazilian Journal of Microbiology*, 47(4), 911–916. <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2016.06.009>
- Esmaili, A., Saleh, I., & Abu-Dieyeh, M. H. (2025). Antifungal potential of plant-based extracts against *Candida* species: values, safety concerns, and possible applications. *Phytochemistry Reviews*, 24(6), 5801–5844. <https://doi.org/10.1007/s11101-025-10093-x>
- Espinel-Ingroff, A., Chowdhary, A., Gonzalez, G. M., Guinea, J., Hagen, F., Meis, J. F., Thompson, G. R., & Turnidge, J. (2015). Multicenter Study of Isavuconazole MIC Distributions and Epidemiological Cutoff Values for the *Cryptococcus neoformans*-*Cryptococcus gattii* Species Complex Using the CLSI M27-A3 Broth Microdilution Method. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 59(1), 666–668. <https://doi.org/10.1128/AAC.04055-14>
- Gonzalez-Pastor, R., Carrera-Pacheco, S. E., Zúñiga-Miranda, J., Rodríguez-Pólit, C., Mayorga-Ramos, A., Guamán, L. P., & Barba-Ostria, C. (2023). Current Landscape of Methods to Evaluate Antimicrobial Activity of Natural Extracts. *Molecules* (Basel, Switzerland), 28(3). <https://doi.org/10.3390/molecules28031068>
- Gow, N. A. R., Latge, J.-P., & Munro, C. A. (2017). The Fungal Cell Wall: Structure, Biosynthesis, and Function. *Microbiology Spectrum*, 5(3). <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.FUNK-0035-2016>
- İlgün, S., Şeker Karatoprak, G., Çiçek Polat, D., Köngül Şafak, E., Yücel, Ç., İnce, U., Uvat, H. Ö., & Küpeli Akkol, E. (2023). Assessment of Phenolic Composition, Antioxidant Potential, Antimicrobial Properties, and Antidiabetic Activity in Extracts Obtained from *Schinus molle* L. Leaves and Fruits. *Frontiers in Bioscience-Landmark*, 28(12). <https://doi.org/10.31083/j.fbl2812353>
- International Ethical Guidelines for Health-related Research involving Humans*. (2016). <https://doi.org/10.56759/rgxl7405>
- Jaramillo-Ordoñez, C. E. (2020). Actividad antifúngica y antibacteriana in vitro del extracto etanólico de *Usnea laevis* frente a *Candida albicans*, *Staphylococcus*

- aureus y *Pseudomonas aeruginosa*. *Revista Médica Herediana*, 31(3), 169–174. <https://doi.org/10.20453/rmh.v31i3.3806>
- Loyola, D., Mendoza, R., Chiong, L., Rueda, M., Alvítez-Temoche, D., Gallo, W., & Mayta-Tovalino, F. (2020). Ethanol extract of *Schinus molle* L. (molle) and *Erythroxylum coca* Lam (coca): Antibacterial properties at different concentrations against *Streptococcus mutans*: An in vitro study. *Journal of International Society of Preventive and Community Dentistry*, 10(5), 579. https://doi.org/10.4103/jispcd.JISPCD_237_20
- Loyola Gil, M., Chian García, A. M., & Polo Gamboa, J. A. (2022). Efecto antifúngico del extracto etanólico foliar de *Azadirachta indica* con el fluconazol sobre *Candida albicans*. *Revista Peruana de Medicina Integrativa*, 7(2), 71–76. <https://doi.org/10.26722/rpmi.2022.v7n2.22>
- Man, A., Mare, A.-D., Mares, M., Ruta, F., Pribac, M., Maier, A.-C., Cighir, A., & Ciurea, C.-N. (2022). Antifungal and Anti-Virulence Activity of Six Essential Oils Against Important *Candida* Species – A Preliminary Study. *Future Microbiology*, 17(10), 737–753. <https://doi.org/10.2217/fmb-2021-0296>
- Mendoza-León, J. C., Fuertes Ruitón, C. M., & Jahuiria-Arias, M. H. (2022). Análisis fitoquímico preliminar y actividad antifúngica In vitro del extracto etanólico de las hojas de *Solanum hispidum* pers. colectadas en la localidad Obraje - Perú. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 321–327. <https://doi.org/10.17843/rpmesp.2022.393.11381>
- Moreno-Loaiza, M., & Moreno-Loaiza, O. (2018). Características clínicas y epidemiológicas de la candidemia en pacientes de un hospital de tercer nivel del sur del Perú, 2011-2014. *ACTA MEDICA PERUANA*, 34(4), 289–293. <https://doi.org/10.35663/amp.2017.344.460>
- Ndezo Bisso, B., Njikang Epie Nkwelle, R., Tchuenguem Tchuenteu, R., & Dzoyem, J. P. (2022). Phytochemical Screening, Antioxidant, and Antimicrobial Activities of Seven Underinvestigated Medicinal Plants against Microbial Pathogens. *Advances in Pharmacological and Pharmaceutical Sciences*, 2022, 1–8. <https://doi.org/10.1155/2022/1998808>

- Oses, R., Ferrando, M., Bruna, F., Retamales, P., Navarro, M., Fernández, K., Vera, W., Larrazábal, M. J., Neira, I., Paredes, A., Osorio, M., Yáñez, O., Jacobs, M., & Bravo, J. (2025). Exploring the Bioactive Potential and Chemical Profile of *Schinus molle* Essential Oil: An Integrated In Silico and In Vitro Evaluation. *Plants*, 14(15), 2449. <https://doi.org/10.3390/plants14152449>
- Panche, A. N., Diwan, A. D., & Chandra, S. R. (2016). Flavonoids: an overview. *Journal of Nutritional Science*, 5, e47. <https://doi.org/10.1017/jns.2016.41>
- Phillips, N. A., Rocktashel, M., & Merjanian, L. (2023). Ibrexafungerp for the Treatment of Vulvovaginal Candidiasis: Design, Development and Place in Therapy. *Drug Design, Development and Therapy*, Volume 17, 363–367. <https://doi.org/10.2147/DDDT.S339349>
- Rodríguez-Tudela, J. L., Berenguer, J., Martínez-Suárez, J. V, & Sanchez, R. (1996). Comparison of a spectrophotometric microdilution method with RPMI-2% glucose with the National Committee for Clinical Laboratory Standards reference macrodilution method M27-P for in vitro susceptibility testing of amphotericin B, flucytosine, and fluconazole against *Candida albicans*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 40(9), 1998–2003. <https://doi.org/10.1128/AAC.40.9.1998>
- Saenz Pupuche, L. H., Tejada Vásquez, A. C., & Guerrero Hurtado, J. D. C. (2021). Efecto antifúngico in vitro de extracto etanólico del rizoma de *Curcuma longa* L. Sobre cepas de *Candida albicans* ATCC 10231. *Revista Peruana de Medicina Integrativa*, 6(3), 66–72. <https://doi.org/10.26722/rpmi.2021.v6n3.39>
- Sayago Alabrin, Bach. A. W., Ochoa Diaz, Bach. R., Arellano Ubillus, J. E., Fernández Guerrero, R. M., & Rodríguez Neyra, Bach. M. R. (2023). *Candida albicans* y su relación con factores epidemiológicos en mujeres en edad fértil atendidas en el centro salud Morro Solar – Jaén 2019. *Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar*, 7(4), 4786–4802. https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v7i4.7316

- Thoppil, R. J. (2011). Terpenoids as potential chemopreventive and therapeutic agents in liver cancer. *World Journal of Hepatology*, 3(9), 228. <https://doi.org/10.4254/wjh.v3.i9.228>
- Tlili, N., Yahia, Y., Feriani, A., Labidi, A., Ghazouani, L., Nasri, N., Saadaoui, E., & Khaldi, A. (2018). Schinus terebinthifolius vs Schinus molle: A comparative study of the effect of species and location on the phytochemical content of fruits. *Industrial Crops and Products*, 122, 559–565. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.05.080>
- Turchetti, G., Garzoli, S., Laghezza Masci, V., Sabia, C., Iseppi, R., Giacomello, P., Tiezzi, A., & Ovidi, E. (2020). Antimicrobial Testing of Schinus molle (L.) Leaf Extracts and Fractions Followed by GC-MS Investigation of Biological Active Fractions. *Molecules*, 25(8), 1977. <https://doi.org/10.3390/molecules25081977>
- Turnidge, J., & Paterson, D. L. (2007). Setting and Revising Antibacterial Susceptibility Breakpoints. *Clinical Microbiology Reviews*, 20(3), 391–408. <https://doi.org/10.1128/CMR.00047-06>
- Viegas, D. de J., Amêndola, I., Botrel, T. M., De Oliveira, F. E., Figueira, L. W., Sper, F. L., De Oliveira, J. R., & De Oliveira, L. D. (2020). Schinus terebinthifolius (Brazilian Peppertree) extract used as antifungal to control Candida spp. in planktonic cultures and biofilms. *Brazilian Dental Science*, 23(4), 7p. <https://doi.org/10.14295/bds.2020.v23i4.2077>
- World Medical Association Declaration of Helsinki. (2013). *JAMA*, 310(20), 2191. <https://doi.org/10.1001/jama.2013.281053>

ANEXOS

Anexo 1. Identificación botánica de *Schinus molle* L. “molle”



Anexo 2. Proceso de secado de hojas fruto de *Schinus molle* L. “molle”



Anexo 3. Proceso de pesado, triturado, maceración y obtención del extracto hidroalcohólico de hojas y frutos de *Schinus molle* L. “molle”.



Anexo 4. Constancia de depósito en el Herbario San Cristóbal de Huamanga

 **UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA**
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
HERBARIO SAN CRISTÓBAL HUAMANGA 

"Año de la recuperación y consolidación de la economía peruana"

CONSTANCIA DE DEPÓSITO N° 09-2025/UNSCH-HSCH

EL DIRECTOR DEL HERBARIO SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA, DEJA CONSTANCIA QUE:

El investigador(a) Bach. en ciencias Biológicas, Roger Palomino Bendezu, identificado con DNI N° 73456908, ha entregado al **Herbario San Cristóbal de Huamanga (HSCH)** un total de **01 muestra botánica** montadas e identificada. Dichos ejemplares forman parte del proyecto: Efecto antimicótico in vitro del extracto hidroalcohólico de *Schinus molle* L. "molle" sobre cepas de *Candida albicans* ATCC. 10231, Ayacucho – 2025.

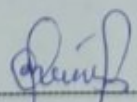
El ejemplar será enumerado, registrado e incorporado a la colección científica del Herbario San Cristóbal de Huamanga.

Se adjunta a la presente:

- 01 ejemplar de la especie *Schinus molle* L.

Se expide la presente a solicitud del interesado, para los fines de investigación de tesis.

Ayacucho, 12 de diciembre de 2025



Dr. Jesús De La Cruz Arango
Director del Herbario San Cristóbal de Huamanga

Ciudad Universitaria - Av. Independencia s/n - Ayacucho



CONSTANCIA

La que suscribe, docente y miembro investigador del Herbario San Cristóbal de Huamanga,

HACE CONSTAR:

Que, se ha realizado la identificación taxonómica de una muestra vegetal proporcionada por el Bach. ROGER PALOMINO BENDEZU, de la Escuela Profesional de Biología, Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, la muestra analizada corresponde a:

- ✓ Familia: ANACARDIACEAE
- ✓ Género: *Schinus*
- ✓ Especie: *Schinus molle* L.
- ✓ Nombre común: Molle

La muestra fue colectada en el área verde de la ciudad universitaria de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, del distrito de Ayacucho, Huamanga, Ayacucho, con coordenadas 18L 638764.00 m E / 8596906.00 m S, la colecta se realizó el 05 de noviembre de 2025.

La especie presenta hojas compuestas alternas, imparipinnadas con numerosos folíolos lineares-lanceolados, verde-amarillento; presentan látex lechoso, inflorescencia en racimo paniculado, flores pequeñas, blanco-amarillentas, fruto drupa, globosa, maduras de color rosado a púrpura o rojizo.

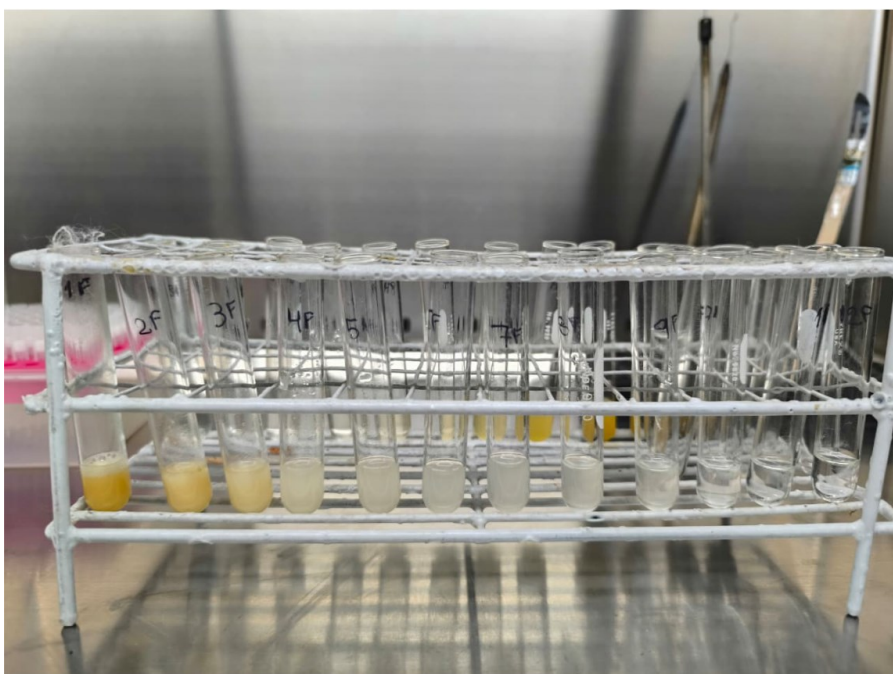
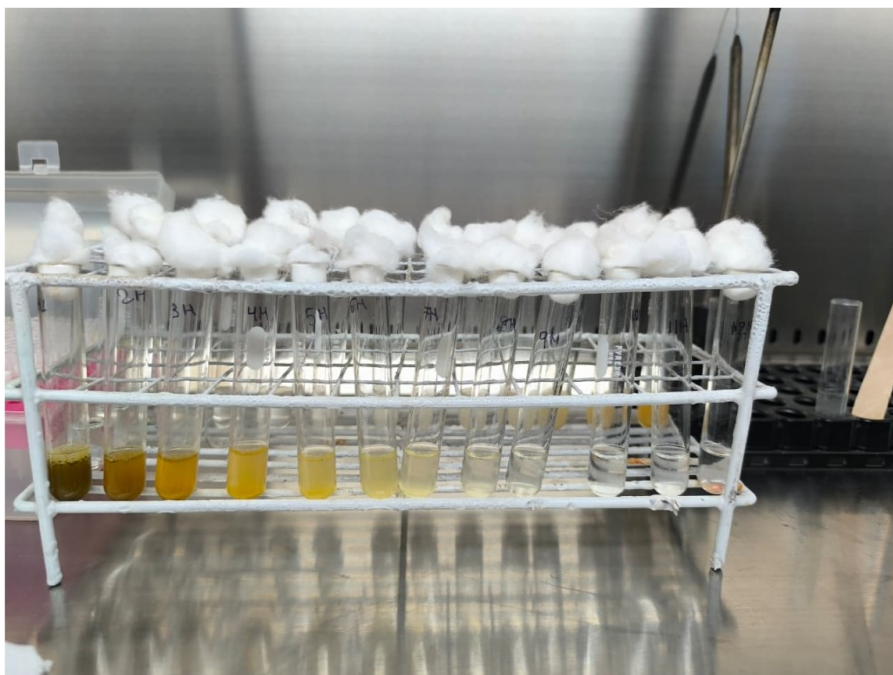
Se expide la presente constancia para los fines que el interesado considere conveniente dentro del marco de su investigación.

Ayacucho, 10 de diciembre de 2025

Bla. Jenny Olga Arrea Paucar
Docente y miembro investigador
del Herbario San Cristóbal de
Huamanga - UNSCH

005-2025

Anexo 5. Visualización de las concentraciones empleadas en el ensayo de CMI y CMF mediante macrodilución



Anexo 6. Certificado de autenticidad e identificación de la cepa de referencia
Candida albicans ATCC 10231



HOSPITAL DE APOYO CANGALLO
LABORATORIO DE ANALISIS CLINICO
ÁREA DE MICROBIOLOGÍA

**CONSTANCIA DE PROCEDENCIA Y AUTENTICIDAD DE CEPA
DE REFERENCIA**

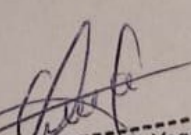
El que suscribe, responsable del Área de Microbiología del Laboratorio de Análisis Clínico del Hospital de Apoyo Cangallo, deja constancia que la cepa de referencia *Candida albicans* ATCC® 10231, utilizada en el desarrollo del proyecto de tesis titulado: "Efecto antimicótico *in vitro* del extracto hidroalcohólico de *Schinus molle* L. "molle" sobre cepas de *Candida albicans* ATCC 10231, Ayacucho – 2025."

Presentado por el Bachiller **Roger Palomino Bendezu**, fue proporcionada por el Área de Microbiología Laboratorio de Análisis Clínico del Hospital de Apoyo Cangallo para fines exclusivamente académicos y de investigación científica.

Asimismo, se certifica que la cepa *Candida albicans* ATCC® 10231 corresponde a una cepa de referencia internacional procedente de la *American Type Culture Collection* (ATCC®), la cual es conservada y manipulada bajo los procedimientos establecidos por el laboratorio para garantizar su identidad, viabilidad y trazabilidad, siendo apta para su utilización en ensayos microbiológicos *in vitro*.

La presente constancia se expide a solicitud del interesado para ser presentada como documento sustentatorio de su proyecto de tesis y para los fines académicos que considere pertinentes.

Ayacucho, 12 de diciembre de 2025.



Emavel Martínez Vega
Bióloga - Microbióloga
C.B.P. N° 16440

Anexo 7. Matriz de consistencia

Título: Efecto antimicótico *in vitro* del EHSM sobre cepas de *C. albicans*, Ayacucho -2025

PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	PROBLEMÁTICA DE ESTUDIO	VARIABLES E INDICADORES	METODOLOGÍA
General	General	General			
¿Cuál es el efecto antimicótico de diferentes concentraciones del EHSM sobre cepas de <i>C. albicans</i> , Ayacucho-2025?	Evaluar el efecto antimicótico de diferentes concentraciones del EHSM sobre cepas de <i>C. albicans</i> , Ayacucho-2025	El EHSM presenta efecto antimicótico <i>in vitro</i> frente a cepas de <i>Candida albicans</i> , evidenciado por la inhibición de su crecimiento a diferentes concentraciones	La candidiasis invasiva y la candidemia son un problema de salud pública por su alta mortalidad y costos hospitalarios, en un contexto de creciente resistencia antifúngica de <i>Candida albicans</i> , patógeno de prioridad crítica para la OMS. <i>Schinus molle</i> ("molle") tiene uso tradicional y potencial antimicrobiano, pero los resultados sobre su actividad antifúngica varían según el órgano vegetal, el solvente y el método de extracción. La limitada evidencia sobre extractos hidroalcohólicos frente a <i>C. albicans</i> justifica evaluar su efecto antimicótico <i>in vitro</i> en Ayacucho en 2025.	Variable dependiente:	Enfoque: Cuantitativo Tipo: básica Nivel: Explicativa Diseño: Experimental Población: Cepas de <i>C. albicans</i> ATCC 10231.
				Efecto antimicótico	
Específicas	Específicos	Específicos		Indicadores:	Muestreo: No probabilístico por conveniencia.
¿Cuál es la concentración mínima inhibitoria (CMI) del EHSM frente a cepas de <i>C. albicans</i> ?	Determinar la CMI frente a <i>C. albicans</i>	El EHSM presenta una concentración mínima inhibitoria (CMI) detectable frente a cepas de <i>Candida albicans</i>		Halo de inhibición en mm Concentración mínima inhibitoria en mg/mL Concentración mínima fungicida en mg/mL	Técnica: Difusión con disco en agar Sabouraud dextrosa (SDA).
¿Cuál es la concentración mínima fungicida (CMF) del EHSM frente a cepas de <i>C. albicans</i> ?	Determinar la CMF frente a <i>C. albicans</i>	El EHSM presenta una concentración mínima fungicida (CMF) medible frente a cepas de <i>Candida albicans</i>		Variable independiente:	Instrumento: Fichas de observación
¿Cuál es el efecto antimicótico a diferentes concentraciones del EHSM sobre cepas de <i>C. albicans</i> ?	Caracterizar la respuesta dosis–efecto (25%, 50%, 75% y 100%) mediante halo de inhibición (mm) y confirmación por CMI/CMF (mg/mL).	El EHSM a concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% inhibe el crecimiento de <i>Candida albicans</i> , mostrando un efecto antimicótico dependiente de la dosis		EHSM	Análisis: Estadística descriptiva e inferencial. Línea de investigación: Microbiología y Productos Naturales

**UNSCH**FACULTAD DE
CIENCIAS BIOLÓGICAS**ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS****Bach. Roger PALOMINO BENDEZU**

RESOLUCIÓN DECANAL N° 149-2026-UNSCH-FCB-D

En la ciudad de Ayacucho, siendo las cuatro de la tarde del día viernes catorce de agosto del año dos mil veintiséis, se reunieron los miembros del Jurado Evaluador en el Auditorio de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, actuando como presidente encargado el Dr. Serapio Romero Gavilán con memorando N° 198-2026-UNSCH-FCB con fecha trece de agosto del año dos mil veintiséis a su vez miembro de jurado, el Dr. Víctor Luis Cárdenas López (miembro-jurado), Mg. Luis Uriel Moscoso García (miembro-asesor) y actuando como secretaria docente encargado el Mg. Ana María Cancho Cuba con memorando N°199-2026-UNSCH-FCB, para presenciar la sustentación de tesis titulada: **Efecto antimicótico *in vitro* del extracto hidroalcohólico de *Schinus molle* L. 'molle' sobre cepas de *Candida albicans* ATCC 10231, Ayacucho – 2025**, presentado por el **Bach. Roger PALOMINO BENDEZU**, el presidente luego de verificar la documentación presentado indica al secretaria docente encargado dar lectura de la documentación que da fe a este acto de sustentación académico, se dispuso el inicio del acto de sustentación, luego el presidente invita al sustentante para exponer su trabajo de investigación con tiempo de 40 minutos tal como se establece el Reglamento General de Grados y Títulos de la Escuela Profesional de Biología indicando al sustentante que contaba con el tiempo establecido para exponer su trabajo de investigación, conforme al Reglamento de Grados y Títulos de la Escuela Profesional de Biología de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Una vez culminado invita a cada uno de los miembros del jurado a participar con sus preguntas, observaciones y sugerencias. Luego invita a cada uno de los asistentes y sustentante abandonar momentáneamente el Auditorio de la Facultad de Ciencias Biológicas para que los miembros del Jurado Evaluador puedan realizar las deliberaciones correspondientes, los cuales se manifiestan a continuación:

Miembros del Jurado Evaluador	Exposición	Respuesta/preguntas	Promedio
Dr. Víctor Luis Cárdenas López	16	16	16
Mg. Luis Uriel Moscoso García	16	16	16
		Promedio	16

El sustentante alcanzó el promedio de 16 aprobatorio. Acto seguido, el presidente invitó al sustentante y al público asistente ingresar al Auditorio de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, el presidente dio a conocer los resultados indicado que de este modo ha concluido el presente acto académico, firmando al pie de dicho documento en señal de conformidad siendo las cinco y cuarenta de la tarde.

Dr. Serapio Romero Gavilán
Presidente (e)

Mg. Luis Uriel Moscoso García
Miembro - asesor

Dr. Víctor Luis Cárdenas López
Miembro - Jurado

Mg. Ana María Cancho Cuba
Secretaria docente (e)



FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA

DECANATURA-ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA

CONSTANCIA DE ORIGINALIDAD DE TRABAJO DE TESIS

Nº 52-2026-FCB-D

Yo, SERAPIO ROMERO GAVILÁN, Director de la Escuela Profesional de Biología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga; autoridad encargada de verificar la tesis titulada: **Efecto antimicótico *in vitro* del extracto hidroalcohólico de *Schinus molle* L. "molle" sobre cepas de *Candida albicans* ATCC 10231, Ayacucho– 2025**, por ROGER PALOMINO BENDEZU; he constatado por medio del uso de la herramienta TURNITIN, procesado CON DEPÓSITO, una similitud de 6%, grado de coincidencia, menor a lo que determina la ausencia de plagio definido por el Reglamento de Originalidad de Trabajos de Investigación de la UNSCH, aprobado con Resolución del Consejo Universitario Nº 039-2021-UNSCH-CU.

En consecuencia, la tesis cumple con las normas para el uso de citas y referencias establecidas por la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Se acompaña el INFORME FINAL DE TURNITIN correspondiente.

Ayacucho, 07 de septiembre de 2026.


UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
Escuela Profesional de Biología

Dr. Serapio Romero Gavilán
DIRECTOR

Efecto antimicótico in vitro del extracto hidroalcohólico de Schinus molle L. “molle” sobre cepas de Candida albicans ATCC 10231, Ayacucho – 2025

por ROGER PALOMINO BENDEZU

Efecto antimicótico in vitro del extracto hidroalcohólico de Schinus molle L. “molle” sobre cepas de Candida albicans ATCC 10231, Ayacucho – 2025

INFORME DE ORIGINALIDAD

6%	6%	3%	3%
INDICE DE SIMILITUD	FUENTES DE INTERNET	PUBLICACIONES	TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	repositorio.unsch.edu.pe	2%
	Fuente de Internet	
2	Submitted to Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga	1%
	Trabajo del estudiante	
3	repositorio.ucv.edu.pe	1%
	Fuente de Internet	
4	actualidadmedica.es	<1%
	Fuente de Internet	
5	Submitted to Universidad Nacional Federico Villarreal	<1%
	Trabajo del estudiante	
6	repositorio.unfv.edu.pe	<1%
	Fuente de Internet	
7	repositorio.uncp.edu.pe	<1%
	Fuente de Internet	
8	hdl.handle.net	<1%
	Fuente de Internet	

Excluir citas	Activo	Excluir coincidencias	< 30 words
Excluir bibliografía	Activo		