



FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD  
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

**EFFECTO ANTIBACTERIANO *IN VITRO* DEL EXTRACTO  
HIDROALCOHÓLICO DE LAS HOJAS DE *Solanum  
aphyodendron* S. KNAPP (Olmish) SOBRE BACTERIAS  
GRAMNEGATIVAS**

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE QUÍMICO  
FARMACÉUTICO

**AUTORES:**

Bach. NAVARRO GONZALES, ROY ADONIS  
<https://orcid.org/0000-0002-9988-1279>

Bach. BALTAZAR SALVADOR, KAREN NOELIA  
<https://orcid.org/0000-0002-8768-9335>

**ASESOR:**

Dr. VILCHEZ CÁCEDA, HÉCTOR ALEXANDER  
<https://orcid.org/0000-0001-7094-0821>

LIMA – PERÚ

2022

## DEDICATORIA

Quiero agradecer a Dios por guiar e iluminar mi camino, a mis padres Silvia y Heber por brindarme su amor, cariño y todo su esfuerzo para que esto sea posible, a mis hermanos por estar siempre en los buenos y malos momentos, y a todas las personas que estuvieron presentes en mi vida.

Gracias a todos ustedes, los amo.

Roy Adonis Navarro Gonzales

A Dios, por guiarme y acompañarme en cada paso que doy.

A mis padres, por su apoyo incondicional desde el inicio de mi carrera y no dejaron ni un segundo de creer en mí.

A mi hermano, por sus buenos deseos y motivación.

Karen Noelia Baltazar Salvador

## AGRADECIMIENTO

Queremos agradecer a la Universidad María Auxiliadora por permitirnos seguir con nuestra formación académica; de manera especial al Dr. Héctor Alexander, Vílchez Cáceda por sus consejos, por su conocimiento y por sus recomendaciones acertadas para que se desarrolle este trabajo de investigación. De igual manera agradecer a todos los profesores que nos guiaron en esta etapa académica y por brindarnos sus enseñanzas y sus orientaciones.

Roy Adonis Navarro Gonzales

Karen Noelia Baltazar Salvador

## Índice General

	<b>Páginas</b>
<b>Resumen</b>	viii
<b>Abstract</b>	ix
<b>I. INTRODUCCIÓN</b>	1
<b>II. MATERIALES Y MÉTODOS</b>	6
2.1 Enfoque y diseño de la investigación	6
2.2 Población, muestra y muestreo	6
2.3 Variables de la investigación	7
2.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos	8
2.5 Proceso de recolección de datos	8
2.6 Métodos de análisis estadístico	12
2.7 Aspectos éticos	12
<b>III. RESULTADOS</b>	13
<b>IV. DISCUSIÓN</b>	22
4.1 Discusión de resultados	22
4.2 Conclusiones	26
4.3 Recomendaciones	27
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	28
<b>ANEXOS</b>	35

## Índice de tablas

<b>Tabla 1.</b> Escala de sensibilidad según Duraffourd	<b>11</b>
<b>Tabla 2.</b> Solubilidades del extracto hidroalcohólico desecado de las hojas de <i>Solanum aphyodendron</i> S. Knapp (olmish)	<b>13</b>
<b>Tabla 3.</b> Marcha fitoquímica del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Solanum aphyodendron</i> S. Knapp (olmish)	<b>14</b>
<b>Tabla 4.</b> Efecto antibacteriano in vitro del extracto Hidroalcohólico de las hojas de <i>Solanum aphyodendron</i> S. Knapp (olmish) por el método de Kirby Bauer	15
<b>Tabla 5.</b> Estadísticos descriptivos de los resultados del ensayo microbiológico	16
<b>Tabla 6.</b> Comparación de medias por ANOVA	17
<b>Tabla 7.</b> Comparaciones múltiples por la prueba de Tukey	18
<b>Tabla 8.</b> Escala de Duraffourd para el extracto hidroalcohólico de las hojas de olmish	20
<b>Tabla 9.</b> Porcentaje del efecto inhibitorio del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Solanum aphyodendron</i> S. Knapp	21

## Índice de figuras

<b>Figura 1.</b> <i>Solanum aphyodendron</i> S. Knapp (olmish)	3
<b>Figura 2.</b> Selección y limpieza de las hojas de <i>Solanum aphyodendron</i> S. Knapp (olmish)	46
<b>Figura 3.</b> Lavado de las hojas de olmish que están en buen estado	46
<b>Figura 4.</b> Secado de las hojas limpias	47
<b>Figura 5.</b> Molienda de las hojas secas de olmish	47
<b>Figura 6.</b> Preparación del macerado	48
<b>Figura 7.</b> Filtrado del macerado	48
<b>Figura 8.</b> Obtención del extracto seco de las hojas de <i>Solanum aphyodendron</i> S. Knapp (olmish)	49
<b>Figura 9.</b> Ensayo de solubilidad del extracto seco de olmish	49
<b>Figura 10.</b> Ensayo fitoquímico del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Solanum aphyodendron</i> S. Knapp	50
<b>Figura 11.</b> Preparación del medio de cultivo, Agar Mueller Hinton	50
<b>Figura 12.</b> Preparación del inóculo y el estándar 0,5 McFarland	51
<b>Figura 13.</b> Siembra en las placas de <i>Salmonella enteritidis</i> , <i>Shigella sonnei</i> y <i>Escherichia coli</i>	51
<b>Figura 14.</b> Preparación de los discos del extracto hidroalcohólico de las hojas de olmish a las concentraciones de 25 %, 50 % y 90 %	52
<b>Figura 15.</b> Colocación de los discos sobre las placas sembradas con las bacterias Gramnegativas	52
<b>Figura 16.</b> Incubación de las placas conteniendo el extracto hidroalcohólico de olmish y las cepas bacterianas	53
<b>Figura 17.</b> Lectura de los resultados y medición de los halos de inhibición con un calibrador Vernier	53

## Índice de Anexos

<b>Anexo A.</b> Operacionalización de las variables	<b>36</b>
<b>Anexo B.</b> Instrumentos de recolección de datos	<b>37</b>
<b>Anexo C.</b> Certificado de clasificación taxonómica	<b>40</b>
<b>Anexo D.</b> Certificado de análisis de <i>Salmonella enteritidis</i> ATCC 13076	41
<b>Anexo E.</b> Certificado de análisis de <i>Shigella sonnei</i> ATCC 25931	42
<b>Anexo F.</b> Certificado de análisis de <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	43
<b>Anexo G.</b> Certificado del ensayo microbiológico del extracto hidroalcohólico de las hoja de <i>Solanum aphyodendron</i> S. Knapp (olmish) sobre cepas de <i>Salmonella Enteritidis</i> , <i>Shigella sonnei</i> y <i>Escherichia coli</i> .	44
<b>Anexo H.</b> Resolución de proyecto de investigación	45
<b>Anexo I.</b> Evidencias del trabajo de campo	46

## RESUMEN

**Objetivo:** Evaluar el efecto antibacteriano in vitro del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Solanum aphyodendron* S. Knapp (olmish) sobre bacterias gramnegativas tales como *Salmonella enteritidis* ATCC 13076, *Shigella sonnei* ATCC 25931 y *Escherichia coli* ATCC 25922.

**Métodos:** El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Solanum aphyodendron* S. Knapp procedentes del distrito de Apata, provincia de Jauja se obtuvo por maceración en etanol al 70 % durante 14 días; para la detección de metabolitos secundarios se realizó la marcha fitoquímica y el efecto antibacteriano se determinó con el método de Kirby Bauer usando grupos de ensayo a las concentraciones de 25, 50 y 90 % para el extracto, etanol al 70 % como blanco y ciprofloxacino 5 ug como control positivo frente a *Salmonella enteritidis* ATCC 13076, *Shigella sonnei* ATCC 25931 y *Escherichia coli* ATCC 25922.

**Resultado:** En el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Solanum aphyodendron* S. Knapp se detectó la presencia de metabolitos secundarios, observando que los más abundantes fueron compuestos fenólicos, alcaloides, lactonas  $\alpha$ ,  $\beta$  insaturadas, y en menor abundancia antraquinonas, antocianinas, saponinas y flavonoides. Según el método de Kirby Bauer se determinó que *Shigella sonnei* ATCC 25931 fue sensible a las concentraciones de 25, 50 y 90 % con un halo de inhibición promedio de 9,50, 10,59 y 12,37 mm respectivamente; comparado con el control positivo que fue sumamente sensible con un halo promedio de 37,03 mm. En las otras cepas no se observó efecto antibacteriano.

**Conclusiones:** El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Solanum aphyodendron* S. Knapp (olmish) presentó efecto antibacteriano in vitro sobre *Shigella sonnei* ATCC 25931 a las concentraciones de 25, 50 y 90 %.

**Palabras clave:** *Solanum aphyodendron* S. Knapp, extracto hidroalcohólico, efecto antibacteriano, *Salmonella enteritidis*, *Shigella sonnei*, *Escherichia coli*.

## ABSTRACT

**Objective:** To evaluate the in vitro antibacterial effect of the hydroalcoholic extract of the leaves of *Solanum aphyodendron* S. Knapp (olmish) on gram-negative bacteria such as *Salmonella enteritidis* ATCC 13076, *Shigella sonnei* ATCC 25931 and *Escherichia coli* ATCC 25922.

**Methods:** The hydroalcoholic extract of the leaves of *Solanum aphyodendron* S. Knapp leaves from the Apata district, Jauja province was obtained by maceration in 70 % ethanol for 14 days, for the detection of secondary metabolites, the phytochemical test was carried out and the antibacterial effect was determined with the Kirby Bauer method. using test groups at the concentrations of 25, 50 and 90 % for the extract, 70% ethanol as a blank and 5 ug ciprofloxacin as a positive control against *Salmonella enteritidis* ATCC 13076, *Shigella sonnei* ATCC 25931 and *Escherichia coli* ATCC 25922

**Results:** In the hydroalcoholic extract of the leaves of *Solanum aphyodendron* S. Knapp, the presence of secondary metabolites was detected, observing that the most abundant were phenolic compounds, alkaloids, lactones  $\alpha$ ,  $\beta$  unsaturated, and in less abundance anthraquinones, anthocyanins, saponins and flavonoids. According to the Kirby Bauer method, it was determined that *Shigella sonnei* ATCC 25931 was sensitive to concentrations of 25, 50 and 90 % with an average inhibition halo of 9,50, 10,59 and 12,37 mm, respectively; compared to the positive control which was highly sensitive with an average halo of 37,03 mm. In the other strains no antibacterial effect was observed.

**Conclusions:** The hydroalcoholic extract from the leaves of *Solanum aphyodendron* S. Knapp (olmish) presented an in vitro antibacterial effect on *Shigella sonnei* ATCC 25931 at concentrations of 25, 50 and 90 %.

**Keywords:** *Solanum aphyodendron* S. Knapp, hydroalcoholic extract, antibacterial effect, *Salmonella enteritidis*, *Shigella sonnei*, *Escherichia coli*.

## I. INTRODUCCIÓN

Las enfermedades transmitidas por los alimentos (ETA) son consideradas un problema para la salud pública ya que afectan en su mayoría a los países en vías de desarrollo, especialmente a los lugares que presentan problemas socioeconómicos y deficiencias en los servicios básicos de alcantarillado. Debido a estos factores muchas personas consumen alimentos contaminados con microorganismos, sustancias químicas, etc. Siendo la primera la que causa mayor morbilidad y mortalidad en la población porque es responsable de producir infecciones gastrointestinales, cuyo síntoma característico es la diarrea <sup>1,2</sup>.

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) las enfermedades del tracto digestivo (enfermedades diarreicas), generadas por el consumo de alimentos contaminados con organismos patógenos como virus, parásitos y bacterias (*salmonella* no tifoidea, *Escherichia coli* y *Shigella*), causan enfermedad en 550 millones de personas y 230 000 de estas mueren anualmente. Además la OMS reporta en el 2017 que esta patología es la segunda en causar mayor mortalidad en niños menores de cinco años, provocando anualmente el fallecimiento de 525 000 niños en el mundo <sup>3,4</sup>.

Según el boletín epidemiológico del Perú 2021 en la semana 31 se reportaron 349 267 episodios a nivel nacional de enfermedades diarreicas agudas, del cual el 97,8 % fueron diarreas acuosas y el restante diarreas disintéricas, además reporta que el 55,4 % se presentó en niños mayores de 5 años y el 44,6 % en menores de 5 años, presentando mayor mortalidad en los primeros con un 54,3 % a nivel nacional <sup>5</sup>.

En el Perú, los casos de infección del tracto digestivo son generados principalmente por bacterias gramnegativas productoras de toxinas tales como *Escherichia coli* enterohemorrágica, *Shigella sonnei* y *Salmonella enteritidis*. Estos microorganismos son transmitidos por alimentos o agua contaminada, presentando un cuadro clínico de gastroenteritis con diarreas acuosas o disintéricas, vómitos y fiebre <sup>6,7</sup>.

Desde el inicio de la humanidad los habitantes con la finalidad de alimentarse y tratar algunas dolencias, utilizaron de manera empírica los diversos recursos vegetales que encontraban a su alrededor y fue así como descubrieron y seleccionaban todas aquellas que tenían cualidades curativas; con el pasar de los años el ser humano empezó a domesticar las plantas y clasificarlas según su necesidad en comestibles y medicinales <sup>8</sup>.

En la actualidad se utilizan plantas medicinales de manera tradicional para tratar inflamaciones, dolores, infecciones, etc. Por otro lado la ciencia estudia las diversas propiedades que estas presentan, para poder clasificar e identificar los metabolitos que tienen actividad farmacológica <sup>8</sup>.

En el mundo existen 12 países megadiversos de los cuales 5 están en América del Sur; Perú es uno de ellos ya que cuenta con 25 000 especies vegetales siendo de este grupo 1400 medicinales <sup>8</sup>. La familia *Solanaceae* se encuentra inmersa en esta gran variedad vegetal, contando con aproximadamente 1 500 especies del género *Solanum* <sup>9</sup>. A esta familia se le atribuye una variedad de efectos terapéuticos como analgésica, antiinflamatoria, antioxidante, antibacteriana, sedativas, antimicóticas entre otras; tales propiedades se deben a que esta especie posee metabolitos como solanina, solasodieno, beta solamarina, diosgenina, licopeno y solasodina <sup>10,11,12</sup>.

Las bacterias como *Escherichia coli*, *Shigella sonnei* y *Salmonella enteritidis*, son bacilos gramnegativos anaerobios facultativos, fermentadores y oxidasa negativos; la transmisión de estas enterobacterias es a través de alimento y/o agua contaminada con heces, la enfermedad más frecuente que generan es gastroenteritis con un cuadro clínico característico de diarreas acuosas o sanguinolentas, fiebre y espasmo abdominal <sup>13,14,15,16</sup>.

La enfermedad diarreica de origen bacteriano que aqueja a niños, ancianos y personas con inmunodeficiencia, causada por microorganismos de la familia *Enterobacteriaceae* es considerada un problema de salud pública, además a esto se le suma el uso indiscriminado de antibióticos que con el tiempo generará resistencia en las bacterias <sup>17</sup>.

La familia *Solanaceae* viene siendo utilizada desde la antigüedad como alimento y como alternativa para tratar diversas patologías, además en el mundo esta cuenta con aproximadamente 2 200 especies y 95 géneros como *Solanum*, *Lycianthes*, *Cestrum*, *Nicotiana*, *Physales* y *Lycium*, destacando entre ellas la primera con 1 200 especies. Las solanáceas presentan importancia a nivel alimenticio (papa, tomate, ají, etc.), medicinal (belladona y mandrágora) e industrial (tabaco) <sup>18</sup>. Sus propiedades farmacoterapéuticas son sedativas, antiinflamatorias, antibacterianas y analgésicas, gracias a sus metabolitos secundarios <sup>10</sup>. En el Perú existen 600 especies y 42 géneros de solanáceas entre estas se encuentra *Solanum aphyodendron* S. Knapp un arbusto o árbol con hojas lanceoladas, con tricomas y con un olor característico; presenta una floración constante de color blanca; el fruto es globoso de color verde que conforme va madurando cambia a un naranja pálido, las encontramos en lugares sombreados y húmedos <sup>18,19,20</sup>.

Se encuentra distribuido por América del Sur en Bolivia, Colombia, Ecuador, Perú, Venezuela; y por América Central en México, Panamá, El Salvador, Guatemala y Honduras; ubicadas entre 2500 – 3500 m.s.n.m <sup>9</sup>.



**Figura 1.** *Solanum aphyodendron* S. Knapp (olmish)

**Fuente:** Elaboración propia.

Entre los antecedentes al desarrollo del trabajo de investigación se dispone de los siguientes:

**García J, et al (2020)**, determinaron la actividad antioxidante y antimicrobiana del extracto etanólico de las partes aéreas de *Solanum radicans* L.F. (huallpachaqui) proveniente de San Juan de Chacña, en la provincia de Aymaraes, departamento de Apurímac. En los resultados se determinó que el extracto etanólico de huallpachaqui al 50 % presentó acción sobre *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*, siendo más sensible el primero con un halo de inhibición de 15 mm con respecto al segundo que fue de 12 mm <sup>21</sup>.

**Villalobos C, (2019)**, comparó el efecto antibacteriano in vitro de los extractos etanólicos de las especies *Cinchona officinalis* (Cascarilla) y *Solanum nigrum* (Hierba mora) frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. En el resultado se determinó que *Staphylococcus aureus* fue sensible al extracto etanólico de *Solanum nigrum* a 1000 ug/ml con un halo de inhibición media de 19 mm <sup>22</sup>.

**Cachi K, et al (2018)**, compararon el efecto antibacteriano del aceite esencial y del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Solanum nigrum* L. "hierba mora" frente a *Pseudomonas aeruginosa*. En los resultados se observó que al 100 % el extracto hidroalcohólico de las hojas de hierba mora presentó actividad con un halo de inhibición media de 11,3 mm <sup>23</sup>.

**Ramón-Valderrama J, et al (2020)**, evaluaron la actividad antioxidante y antimicrobiana de los extractos metanólicos de diez especies del género *Solanum*. En los resultados se determinó que los extractos metanólicos de las hojas *Solanum mammosum* y *Solanum barbeyanum* presentaron actividad sobre *Escherichia coli* con un halo de inhibición de 1 mm a 2 mm <sup>24</sup>.

**Ortiz H, et al (2019)**, evaluaron la acción antibacteriana de dos extractos uno etanólico y otro metanólicos de *S. dolichosepalum* sobre una Gram positiva (*Staphylococcus aureus*) y tres Gram negativas (*Salmonella spp.*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Aeromonas hydrophila*). En los resultados se determinó que *Staphylococcus aureus* fue más sensible al extracto etanólico y *Pseudomonas aeruginosa* al extracto metanólico <sup>25</sup>.

**Cañon T, et al (2018)**, realizaron el estudio fitoquímico a los extractos etanólicos de las partes aéreas (frutos, hojas y tallos) de la especie vegetal *Solanum crinitipes* Dunal (*Solanaceae*) y además evaluaron su actividad antimicrobiana y/o antifúngico y así establecer algún uso potencial de esta especie vegetal. En los resultados se determinó que *Staphylococcus aureus* fue el más sensible al extracto acetónico de hojas <sup>26</sup>.

En el Perú existen una gran diversidad de plantas medicinales y muchas son usadas aun de manera empírica, mientras otras cuentan con un sustento científico. Las propiedades terapéuticas atribuidas a estas se deben a que presentan metabolitos bioactivos; es por ello que son usadas en la medicina herbolaria para tratar inflamaciones, infecciones bacterianas o micóticas, dolores, entre otras. Sin embargo en nuestro país y en el mundo las enfermedades transmitidas por los alimentos son consideradas un problema de salud pública que afectan en su mayoría a niños, ancianos y personas inmunodeprimidos; siendo las infecciones gastrointestinales de origen bacteriano la más preocupante <sup>8,1</sup>.

Por tales consideraciones se decide realizar un estudio a la especie *Solanum aphyodendron* S. Knapp, la cual será recolectada en la provincia de Jauja. Este estudio se justifica de modo que el recurso vegetal es utilizado hoy en día de manera empírica para tratar alteraciones digestivas (espasmos, cólicos y diarreas); siendo el objetivo demostrar un posible efecto antibacteriano, que de ser cierta permitirá tener una alternativa fitoterapéutica de fácil acceso y económica, además aportará conocimiento para futuras investigaciones.

El objetivo general del estudio fue evaluar el efecto antibacteriano in vitro del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Solanum aphyodendron* S. Knapp (olmish) sobre bacterias gramnegativas.

La hipótesis general del estudio fue:

El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Solanum aphyodendron* S. Knapp (olmish) presenta efecto antibacteriano in vitro sobre bacterias gramnegativas.

## II. MATERIALES Y MÉTODOS

### 2.1 ENFOQUE Y DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

**Enfoque:** Cuantitativo, porque se recolectó información mediante mediciones y análisis estadísticos, para probar la hipótesis planteada <sup>27</sup>.

**Experimental:** Porque se manipuló el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Solanum aphyodendron* S. Knapp de manera intencionada para producir un efecto en la variable dependiente <sup>27</sup>.

**Explicativo:** Se buscó explicar porque ocurre el fenómeno <sup>27</sup>.

**Correlacional:** Permitió conocer la relación que hay entre la variable independiente y la dependiente <sup>27</sup>.

**Prospectivo:** Porque los datos se recogieron, midieron y analizaron en el transcurso que sucedieron los hechos (efecto), después de iniciada la investigación <sup>28</sup>.

**Transversal:** Porque los datos de la variable independiente fueron medidos en un único momento <sup>28</sup>.

### 2.2 POBLACIÓN, MUESTRA Y MUESTREO

La población vegetal estaba constituida por 6485,7 g de hojas de la especie *Solanum aphyodendron* S. Knapp (olmish) procedentes del distrito de Apata, provincia de Jauja, departamento de Junín ubicada a una altura de 3340 m.s.n.m. las que fueron recolectadas manualmente en el lugar de cultivo, de este grupo se seleccionaron aquellas que presentaban buen estado, además se retiró las que se encontraban rotas, magulladas, secas y con contaminantes <sup>29</sup>. Una vez seleccionadas las hojas se procedió a estabilizarlas en la zona de cultivo de forma natural hasta su traslado al lugar de investigación, allí se procedió a lavar con agua potable, luego se desinfectó y finalmente se enjuago con agua de destilada <sup>29</sup>.

La muestra estaba constituida por 500 g de hojas de *Solanum aphyodendron* S. Knapp trituradas, está se obtuvo de la siguiente manera; obtenidas las hojas limpias se procedió a secarlas en una estufa con aire recirculante a una temperatura de 40 °C y un tiempo de 24 horas. Cumplido este proceso se procedió a triturarlas y almacenarlas en frascos ámbar de vidrio <sup>29</sup>.

El muestreo fue aleatorizado en la zona de cultivo.

La identificación y certificación botánica de las hojas de la especie *Solanum aphyodendron* S. Knapp se realizó en el consultorio botánico del biólogo José R. Campos de la Cruz. **(Ver anexo C)**

La preparación del extracto se realizó mediante el método de maceración, donde se puso en contacto 500 g de material seco y triturado con 1000 ml de solución hidroalcohólico (etanol 70 % y agua 30 %) el cual fue homogenizada cada cierto periodo por 14 días, cumplido el tiempo se filtró el extracto con papel Whatman N° 1, posteriormente el líquido filtrado se llevó a una estufa a 40 °C para eliminar el disolvente restante y así obtener el extracto seco, finalmente se procedió a almacenarlo en un frasco ámbar de vidrio a temperatura de 2 a 8 °C <sup>29,30</sup>.

La población bacteriana estuvo constituida por 3 especies de la familia *enterobacteriaceae*.

Para la unidad de análisis se emplearon cepas certificadas de *Escherichia Coli* ATCC 25922, *Salmonella enteritidis* ATCC 13076 y *Shigella sonnei* ATCC 25931 procedentes del laboratorio Microbiologics. **(Ver anexo D)**

## 2.3 VARIABLES DE INVESTIGACIÓN

**Variable independiente:** Extracto hidroalcohólico de las hojas de *Solanum aphyodendron* S. Knapp (olmish).

Definición conceptual: Sustancia obtenida de la mezcla de las hojas de *Solanum aphyodendron* con una solución de etanol y agua.

Definición operacional: El extracto hidroalcohólico es la forma práctica de concentrar y obtener los principios activos que sintetizan los recursos vegetales.

**Variable dependiente:** Efecto antibacteriano in vitro sobre bacterias gramnegativas.

Definición conceptual: Conjunto de compuestos que eliminan o reducen el crecimiento bacteriano.

Definición operacional: El efecto antibacteriano se determinará mediante el Método Kirby Bauer o método de difusión.

## 2.4 TÉCNICAS E INSTRUMENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS

La técnica que se utilizó fue la observación, esta nos permitió recolectar datos de la prueba de solubilidad, de la marcha fitoquímica y mediante el método de Kirby Bauer del ensayo microbiológico, los resultados fueron recogidos en fichas de datos.

## 2.5 PROCESO DE RECOLECCIÓN DE DATOS

### 2.5.1 Análisis previo del extracto hidroalcohólico

El análisis previo del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Solanum aphyodendron* S. Knapp (olmish) se realizó en el Laboratorio Biológico y Análisis Clínico Santa Rosa E.I.R.L. ubicado en la ciudad de Lima.

Obtenido el extracto seco se procedió a realizar los siguientes ensayos.

- a) **Índice afrosimétrico:** para este ensayo se pesó 0,5 g de extracto seco de olmish en un tubo de ensayo, a este se agregó 3 ml de agua destilada y se homogenizó, finalmente se observó la presencia de espuma <sup>31</sup>.
- b) **Determinación de pH a 25 °C:** esta prueba se realizó adicionando 0,5 g de extracto seco a un tubo de ensayo, luego se adiciono 3 ml de etanol 70 % se homogenizo y se midió el pH con un peachímetro <sup>31</sup>.
- c) **Prueba de solubilidad:** esta prueba se realizó con los siguientes solventes; éter de petróleo, diclorometano, cloroformo, butanol, etanol 96 %, etanol 70 %, agua destilada y dimetilsulfóxido (DMSO) <sup>30</sup>. Para esto se utilizó 8 tubos de ensayos rotulados de manera correlativa y a cada uno de ellos se agregó 0,5 g de extracto y 3 ml de solvente luego se llevó a un agitador vortex por 2 minutos <sup>32</sup>.

## 2.5.2 Marcha fitoquímica

Este ensayo nos permitió determinar metabolitos secundarios mediante reacciones de coloración y precipitación. Para ello se colocó 0,5 g de extracto hidroalcohólico seco de las hojas de *Solanum aphyodendron* S. Knapp a un tubo de ensayo, luego se procedió a adicionar etanol 70 %, de esta solución se tomó 0,5 ml y se adiciono a 12 tubos de ensayos; finalmente a cada uno se le agrego los siguientes reactivos; cloruro férrico (compuestos fenólicos), gelatina-sal (taninos catéquicos), shinoda (flavonoides), Liebermann Burchard (esteroides y triterpenoides) Baljet (lactonas alfa y beta insaturadas y cumarinas), mientras Dragendorff, Mayer y Wagner (alcaloides), Borntrager (antraquinonas) e hidróxido de sodio (antocianinas) <sup>29,8</sup>.

## 2.5.3 Actividad antibacteriana método Kirby Bauer o antibiograma

Este ensayo se realizó en el Laboratorio Biológico y Análisis Clínico Santa Rosa E.I.R.L. con cepas tipificadas de *Salmonella enteritidis* ATCC 13076, *Shigella sonnei* ATCC 25931 y *Escherichia coli* ATCC 25922 por quintuplicado.

**a) Preparación de los extractos a ensayar:** una vez determinada la solubilidad del extracto seco se procedió a preparar las concentraciones de 90 %, 50 % y 25 %. Para lo cual se elaboró una solución madre de 5 ml (4,5 g de extracto más cantidad suficiente de etanol 70 %) <sup>31,33</sup>.

**b) Activación de la cepas de *Salmonella enteritidis* ATCC 13076, *Shigella sonnei* ATCC 25931 y *Escherichia coli* ATCC 25922:** para la activación de las cepas ATCC se usó el producto Kwik-Stik microbiologics la cual contiene microorganismos liofilizados.

Dicho dispositivo presenta un diseño de fácil manejo, en la parte superior contiene un líquido hidratante y en parte inferior la bacteria en un gránulo.

Para poder sembrar en el Agar Triptona Soya (TSA) primero se prepara el dispositivo liberando el líquido hidratante y se deja

descender hasta el microorganismo, luego se presionó la parte inferior para obtener una buena homogenización, finalmente se embebe bien el hisopo y se realiza la transferencia a las placas de cultivo, la cual fue llevada a la incubadora a 37 °C por 24 horas <sup>33</sup>.

- c) Preparación del inóculo:** cumplido el tiempo de incubación se procedió a realizar los inóculos, para ello se rotularon 3 tubos de ensayos y se adiciono solución salina (NaCl 0.9 %) a cada uno. Seguidamente se tomó de 3 a 4 colonias de los cultivos con un asa de siembra y se transfirió a los tubos conteniendo la solución hasta alcanzar una turbidez semejante a la de 0,5 Mc. Farland <sup>29,33</sup>.
- d) Preparación del medio de cultivo:** se realizó según las indicaciones del proveedor; se pesó 11,4 g de Agar Mueller Hinton deshidratado y se adiciono 300 ml de agua destilada luego se llevó a calor y agitación constante hasta la disolución completa del agar, finalmente se procedió a esterilizar el medio en una autoclave a 15 Psi y 121 °C por 15 minutos. Finalizado el autoclavado se dejó enfriar el medio hasta 45 °C – 50 °C para ser vertido en las placas petris estériles <sup>29</sup>.
- e) Inoculación de las placas:** preparado el inóculo y el medio de cultivo se procedió a transferir las bacterias con la ayuda de un hisopo a las placas conteniendo el agar solidificado. La siembra fue por estrías en tres direcciones para obtener una buena uniformidad, previo a esto todas las placas fueron rotuladas donde se especificó las concentraciones y el nombre de la bacteria <sup>28,29</sup>.
- f) Grupos a ensayar:** se elaboraron discos de papel filtro Whatman N°1 de 6 mm de diámetro los cuales se esterilizaron. Estos previamente fueron embebidos con el extracto hidroalcohólico y finalmente fueron depositados en el medio de cultivo sembrado con las cepas bacterianas, para luego ser incubados a 37 °C por 24 horas <sup>34</sup>.

Preparación de los grupos:

- Discos embebidos con etanol 70 %.
- Discos de ciprofloxacino 5 ug.
- Discos embebidos con 10 ul de extracto hidroalcohólico de las hojas de *Solanum aphyodendron* S. Knapp al 25 %.
- Discos embebidos con 10 ul de extracto hidroalcohólico de las hojas de *Solanum aphyodendron* S. Knapp al 50 %.
- Discos embebidos con 10 ul de extracto hidroalcohólico de las hojas de *Solanum aphyodendron* S. Knapp al 90 %.

**g) Interpretación de los resultados:** cumplido el tiempo de incubación se procedió a medir los halos de inhibición con la ayuda de un calibrador vernier expresados en mm, estos resultados fueron comparados con la escala de sensibilidad de Duraffourd <sup>35</sup>. (ver tabla 1)

Tabla 1. Escala de sensibilidad según Duraffourd.

ESTATUS	MEDIDAS EN MM
Sensibilidad nula (-)	< 8 mm
Sensible (+)	> 8 mm ≤ 14 mm
Muy sensible (++)	>14 ≤ 20 mm
Sumamente sensible (+++)	> 20 mm

**Fuente:**<https://revistadigital.uce.edu.ec/index.php/odontologia/articulo/view/1470/1425>

## **2.6 Métodos de análisis estadístico**

Luego de la obtención de resultados de los análisis antes mencionados, se realizaron las evaluaciones mediante estadística descriptiva utilizando el paquete informático Microsoft Excel versión 2019. Asimismo, los cuadros constituidos por los halos de inhibición medidos a las 24 horas de incubación se someterán al método de análisis de varianza (ANOVA) y el método de tukey, para determinar la diferencia significativa para lo cual se usará el programa SPSS <sup>29,36</sup>.

## **2.7 Aspectos éticos**

Se respetarán las Buenas Prácticas de Laboratorio cumpliendo con los protocolos de bioseguridad y el respeto al medio ambiente debido a que el estudio es in vitro. Además se respetarán los principios de transparencia y veracidad <sup>28,36,37</sup>.

### III. RESULTADOS

#### 3.1 De las pruebas de solubilidad

**Tabla 2.** Solubilidades del extracto hidroalcohólico desecado de las hojas de *Solanum aphyodendron* S. Knapp (olmish).

TUBOS	SOLVENTES	RESULTADOS
N° 1	Éter de petróleo	-
N° 2	Diclorometano	-
N° 3	Cloroformo	-
N° 4	Butanol	-
N° 5	Etanol 96	-
N° 6	Etanol 70	+++
N° 7	Agua destilada	+
N° 8	Dimetilsulfóxido	++

**Fuente:** Elaboración propia

Dónde: (-) Insoluble, (+) Poco soluble, (++) Soluble, (+++) Muy soluble

En la **tabla 2**, se observó que el extracto hidroalcohólico de las hojas de olmish fue muy soluble en etanol 70 %, soluble en dimetilsulfóxido y poco soluble en agua destilada.

### 3.2 De la marcha fitoquímica

**Tabla 3.** Marcha fitoquímica del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Solanum aphyodendron* S. Knapp (olmish).

TUBOS	ENSAYOS	METABOLITOS	RESULTADOS
N° 1	Borntrager	Antraquinonas	+
N° 2	Cloruro férrico	Compuestos fenólicos	+++
N° 3	Liebermann-Burchard	Terpenos y esteroides	-
N° 4	Dragendorff	Alcaloides	+++
N° 5	Mayer	Alcaloides	-
N° 6	Wagner	Alcaloides	+
N° 7	Baljet	Lactonas $\alpha,\beta$ -insaturadas	+++
N° 8	Gelatina	Taninos	-
N° 9	Gelatina-sal	Taninos	-
N° 10	NaOH 10%	Antocianinas	+
N° 11	Espuma	Saponinas	+
N° 12	Shinoda	Flavonoides	+

**Fuente:** Elaboración propia

Donde:(-) ausencia, (+) leve, (++) moderado, (+++) abundante

En la **tabla 3.** Se observó que en el extracto hidroalcohólico de las hojas de olmish se detectó de manera abundante compuestos fenólicos, alcaloides, Lactonas  $\alpha, \beta$  – insaturadas y cumarinas, mientras la presencia de antraquinonas, antocianinas, saponinas y flavonoides fue leve, y hubo ausencia para taninos, triterpenos y esteroides.

### 3.3 Del efecto antibacteriano

**Tabla 4.** Efecto antibacteriano in vitro del extracto Hidroalcohólico de las hojas de *Solanum aphyodendron* S. Knapp (olmish) por el método de Kirby Bauer.

Ensayo microbiológico	Concentración del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Solanum aphyodendron</i> S. Knapp (olmish)			Ciprofloxacino (control)	Etanol (blanco)
	25 %	50 %	90 %	5 ug	70 %
<b><i>Salmonella enteritidis</i> ATCC 13076</b>					
Halos de inhibición (mm)	6	6	6	33,73	6
	6	6	6	33,78	6
	6	6	6	33,75	6
	6	6	6	33,75	6
	6	6	6	33,73	6
<b>Promedio</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>33,75</b>	<b>6</b>
<b><i>Shigella sonnei</i> ATCC 25931</b>					
Halos de inhibición (mm)	9,51	10,60	12,39	37,00	6
	9,50	10,61	12,38	37,01	6
	9,48	10,58	12,35	37,00	6
	9,52	10,57	12,38	37,10	6
	9,50	10,60	12,36	37,03	6
<b>Promedio</b>	<b>9,50</b>	<b>10,59</b>	<b>12,37</b>	<b>37,03</b>	<b>6</b>
<b><i>Escherichia coli</i> ATCC 25922</b>					
Halos de inhibición (mm)	6	6	6,95	35,30	6
	6	6	6,94	35,32	6
	6	6	6,95	35,30	6
	6	6	6,97	35,25	6
	6	6	6,95	35,29	6
<b>Promedio</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6,95</b>	<b>35,29</b>	<b>6</b>

**Fuente:** Elaboración propia.

En la **tabla 4**. Se observó que el efecto antibacteriano in vitro del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Solanum aphyodendron* S. Knapp (olmish) presentó actividad frente a *Shigella sonnei* ATCC 25931 a las concentraciones de 25 %, 50 %, 90 % con halos de inhibición de 9,50 mm, 10,59 mm y 12,37 mm respectivamente, y además se determinó que ciprofloxacino fue más sensible en comparación con el extracto. En *Salmonella enteritidis* ATCC 13076 y *Escherichia coli* ATCC 25922 no se observó actividad.

**Tabla 5.** Estadísticos descriptivos de los resultados del ensayo microbiológico

<b>Descriptivos</b>			
	<i>Salmonella enteritidis</i> ATCC 13076	<i>Shigella sonnei</i> ATCC 25931	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922
<b>Estadísticos</b>			
Media	<b>11,5496</b>	<b>15,0988</b>	<b>12,0488</b>
Mediana	<b>6,0000</b>	<b>10,6000</b>	<b>6,0000</b>
Moda	<b>6,00</b>	<b>6,00</b>	<b>6,00</b>
Desv. Desviación	<b>11,32808</b>	<b>11,39034</b>	<b>11,86722</b>
Varianza	<b>128,325</b>	<b>129,740</b>	<b>140,831</b>
Asimetría	<b>1,597</b>	<b>1,457</b>	<b>1,594</b>
Error estándar de asimetría	<b>,464</b>	<b>,464</b>	<b>,464</b>
Curtosis	<b>,593</b>	<b>,394</b>	<b>,587</b>
Error estándar de curtosis	<b>,902</b>	<b>,902</b>	<b>,902</b>
Rango	<b>27,78</b>	<b>31,10</b>	<b>29,32</b>

**Fuente:** Programa estadístico Excel 2019.

En la **tabla 5** se evidencia la estadística descriptiva con 95 % de intervalo de confianza para las medidas de tendencia central (media, mediana) y medidas de dispersión (rango, desviación estándar) correspondientemente.

Luego se ejecutó un estadístico inferencial para determinar diferencia de medias de los grupos mediante el análisis de varianzas (ANOVA).

**Tabla 6.** Comparación de medias por ANOVA

ANOVA						
		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
<b><i>Salmonella enteritidis</i></b> <b>ATCC 13076</b>	Entre grupos	3079,806	4	769,952	9166089,333	,000
	Dentro de grupos	,002	20	,000		
	<b>Total</b>	<b>3079,808</b>	<b>24</b>			
<b><i>Shigella sonnei</i></b> <b>ATCC 25931</b>	Entre grupos	3113,744	4	778,436	1538411,138	,000
	Dentro de grupos	,010	20	,001		
	<b>Total</b>	<b>3113,754</b>	<b>24</b>			
<b><i>Escherichia coli</i></b> <b>ATCC 25922</b>	Entre grupos	3379,938	4	844,985	5348003,646	,000
	Dentro de grupos	,003	20	,000		
	<b>Total</b>	<b>3379,941</b>	<b>24</b>			

**Fuente:** Programa estadístico Excel 2019.

La **tabla 6** muestra un valor de significancia asintótica bilateral menor al 0.05 para los resultados del ensayo microbiológico in vitro con las cepas bacterianas *Salmonella enteritidis*, *Shigella sonnei* y *Escherichia coli*. Esto es evidencia de que existe diferencia estadísticamente significativa entre los halos de inhibición medio de todos los grupos en el ensayo microbiológico según el estadístico ANOVA.

Para determinar si existen diferencias entre los halos de inhibición medio entre los grupos mediante múltiples comparaciones se utilizó el estadístico de Tukey.

**Tabla 7.** Comparaciones múltiples por la prueba de Tukey

Comparaciones múltiples							
HSD Tukey							
Variable dependiente	(I) Grupo Salmonella enteritidis ATCC 13076	(J) Grupo Salmonella enteritidis ATCC 13076	Diferencia de medias (I-J)	Desv. Error	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
						Límite inferior	Límite superior
Salmonella enteritidis ATCC 13076	Ciprofloxacino 5ug	Etanol 70°	27,74800*	,00580	,000	27,7307	27,7653
		Ext. 25 %	27,74800*	,00580	,000	27,7307	27,7653
		Ext. 50 %	27,74800*	,00580	,000	27,7307	27,7653
		Ext. 90 %	27,74800*	,00580	,000	27,7307	27,7653
	Etanol 70°	Ciprofloxacino 5ug	-27,74800*	,00580	,000	-27,7653	-27,7307
		Ext. 25 %	,00000	,00580	1,000	-,0173	,0173
		Ext. 50 %	,00000	,00580	1,000	-,0173	,0173
		Ext. 90 %	,00000	,00580	1,000	-,0173	,0173
Shigella sonnei ATCC 25931	Ciprofloxacino 5ug	Etanol 70°	31,02800*	,01423	,000	30,9854	31,0706
		Ext. 25 %	27,52600*	,01423	,000	27,4834	27,5686
		Ext. 50 %	26,43600*	,01423	,000	26,3934	26,4786
		Ext. 90 %	24,65600*	,01423	,000	24,6134	24,6986
	Etanol 70°	Ciprofloxacino 5ug	-31,02800*	,01423	,000	-31,0706	-30,9854
		Ext. 25 %	-3,50200*	,01423	,000	-3,5446	-3,4594
		Ext. 50 %	-4,59200*	,01423	,000	-4,6346	-4,5494
		Ext. 90 %	-6,37200*	,01423	,000	-6,4146	-6,3294
Escherichia coli ATCC 25922	Ciprofloxacino 5ug	Etanol 70°	29,29200*	,00795	,000	29,2682	29,3158
		Ext. 25 %	29,29200*	,00795	,000	29,2682	29,3158
		Ext. 50 %	29,29200*	,00795	,000	29,2682	29,3158
		Ext. 90 %	28,34000*	,00795	,000	28,3162	28,3638
	Etanol 70°	Ciprofloxacino 5ug	-29,29200*	,00795	,000	-29,3158	-29,2682
		Ext. 25 %	,00000	,00795	1,000	-,0238	,0238
		Ext. 50 %	,00000	,00795	1,000	-,0238	,0238
		Ext. 90 %	-,95200*	,00795	,000	-,9758	-,9282

\*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

Fuente: Programa estadístico Excel 2019

La **tabla 7** muestra que los valores de significancia asintótica bilateral son menores al 0.05 en las comparaciones entre los grupos al 25 %, 50 %, 90 % frente al grupo control (Ciprofloxacino 5 ug) en el ensayo microbiológico con la cepa bacteriana *Salmonella enteritidis*. Sin embargo, se evidencia una diferencia estadísticamente significativa entre el grupo (Ciprofloxacino 5ug) y los grupos experimentales que favorece al grupo (Ciprofloxacino 5 ug).

De igual importancia, se muestra que los valores de significancia asintótica bilateral son mayores al 0.05 en las comparaciones entre los grupos experimentales al 25 %, 50 % y 90 % frente al grupo control (Etanol 70 %) en el ensayo microbiológico con la cepa bacteriana *Salmonella enteritidis*. Esto es evidencia de que no existen diferencias estadísticamente significativas entre los grupos de experimentación y el control. Esto es evidencia de que los grupos experimentales al 25 %, 50 % y 90 % no presentan efecto inhibitor del crecimiento de la cepa *Salmonella enteritidis*.

Por otro lado, los valores de la significancia asintótica bilateral son menores al 0.05 en las comparaciones entre los grupos al 25 %, 50 % y 90 % frente al grupo control (Etanol 70 %) y grupo (Ciprofloxacino 5 ug) en el ensayo microbiológico con la cepa bacteriana *Shigella sonnei*. Esto es evidencia de que si existen diferencias estadísticamente significativas entre los grupos experimentales y el control. Sin embargo, se evidencia una diferencia estadísticamente significativa entre el grupo (Ciprofloxacino 5 ug) y los grupos experimentales que favorece al grupo (Ciprofloxacino 5 ug). Sin embargo, se evidencia que los grupos experimentales al 25 %, 50 % y 90 % si presentan efecto inhibitor del crecimiento de la cepa *Shigella sonnei*.

Finalmente, los valores de significancia asintótica bilateral son menores al 0.05 en las comparaciones entre los grupos al 25 %, 50 %, 90 % frente al grupo control (Ciprofloxacino 5 ug) en el ensayo microbiológico con la cepa bacteriana *Escherichia coli*. Esto es evidencia de que existen diferencias estadísticamente significativas entre los grupos de experimentación y el control, pero que favorece al grupo (Ciprofloxacino 5 ug).

Por otro lado, se muestra que los valores de significancia asintótica bilateral son mayores al 0.05 en las comparaciones entre los grupos experimentales al 25 % y 50 % frente al grupo control (Etanol 70 %) en el ensayo microbiológico con la cepa bacteriana *Escherichia coli*. Esto es evidencia de que no existen diferencias estadísticamente significativas entre los grupos de experimentación al 25 % y 50 % y el control (Etanol 70 %). Esto es evidencia de que los grupos experimentales al 25 % y 50 % no presentan efecto inhibitor del crecimiento de la cepa *Escherichia coli*.

Asimismo, el valor de la significancia asintótica bilateral es menor al 0.05 en las comparaciones entre los grupos al 90 % frente al grupo control (Etanol 70 %), evidenciando una diferencia estadísticamente significativa, sin embargo, respecto a la escala de Duraffourd, no se considera como efecto inhibitor del crecimiento de la cepa *Escherichia coli*.

**Tabla 8.** Escala de Duraffourd para el extracto hidroalcohólico de las hojas de olmish.

<b>Escala de sensibilidad de Duraffourd</b>			
DATOS	<i>Salmonella enteritidis</i> ATCC 13076	<i>Shigella sonnei</i> ATCC 25931	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25022
25 %	-	+	-
50 %	-	+	-
90 %	-	+	-
Etanol 70 %	-	-	-
Ciprofloxacino 5ug	+++	+++	+++

**Fuente:** Elaboración propia.

Dónde: (-) sensibilidad nula < 8 mm, (+) sensible > 8 mm y ≤ 14 mm, (++) muy sensible < 14 mm y ≤ 20 mm, (+++) sumamente sensible > 20 mm.

En la **tabla 8** se aprecia que *Shigella sonnei* fue sensible a las 3 concentraciones del extracto hidroalcohólico de las hojas, mientras *salmonella enteritidis* y *Escherichia coli* presentaron sensibilidad nula, por otro lado las cepas bacterianas fueron sumamente sensibles a ciprofloxacino 5 ug.

**Tabla 9.** Porcentaje del efecto inhibitorio del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Solanum aphyodendron* S. Knapp

Porcentaje de efecto inhibitorio			
DATOS	<i>Salmonella enteritidis</i> ATCC 13076	<i>Shigella sonnei</i> ATCC 25931	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25022
25 %	0	25.65 %	0
50 %	0	28,60 %	0
90 %	0	33,40 %	19,69 %
Etanol 70 %	0	0	0
Ciprofloxacino 5ug	100 %	100 %	100 %

**Fuente:** Elaboración propia.

$$\text{Dónde: \% inhibitorio} = \frac{\text{diámetro de la muestra}}{\text{diámetro del control positivo}} \times 100$$

En la **tabla 9** se aprecia que el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Solanum aphyodendron* S. Knapp a las concentraciones de 25, 50 y 90 % frente a *Shigella sonnei* presentó los porcentajes de inhibición de 24,47, 28,60 y 34,40 % respectivamente, mientras para *Escherichia coli* la concentración al 90 % presentó un porcentaje de inhibición de 19,69 % y para *salmonella enteritidis* no hubo porcentaje de inhibición; mientras ciprofloxacino presentó 100 % para todas las bacterias.

## IV. DISCUSIÓN

### 4.1 Discusión de resultados

En el presente estudio del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Solanum aphyodendron* S. Knapp (olmish) frente a bacterias como *Salmonella enteritidis* ATCC 13076, *Shigella sonnei* ATCC 25931 y *Escherichia coli* ATCC 25922, se realizó el ensayo de la prueba de solubilidad, en la que los resultados según la **tabla 2**, mostraron que el extracto hidroalcohólico de olmish, fue muy soluble en etanol de 70 %, soluble en dimetilsulfóxido y poco soluble en agua destilada. Por ello se decidió realizar los siguientes ensayos en el solvente que presentó mayor afinidad.

En el ensayo de tamizaje fitoquímico realizado según la metodología de Lock. (2016)<sup>8</sup>, se detectó que el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Solanum aphyodendron* S Knapp presento compuestos fenólicos, alcaloides y lactonas  $\alpha$ ,  $\beta$ -insaturadas, que de acuerdo a la **tabla 3** fueron los más abundantes; además se determinó que el extracto tiene en menor abundancia antraquinonas, antocianinas, saponinas y flavonoides.

Estos resultados concuerdan con el estudio de Mendoza J. (2022)<sup>38</sup>, realizado a las hojas de *Solanum hispidum* Pers especie del mismo género, donde se determinaron compuestos fenólicos, alcaloides, flavonoides, esteroides, taninos y saponinas.

Del mismo modo, en el trabajo de investigación de Chang L, et al (2013)<sup>39</sup>, se observó que la especie *Solanum nigrum* presentó alcaloides, taninos, flavonoides, saponinas y cumarinas.

Asimismo los resultados fitoquímicos realizados a las especies *Solanum radicans*, *Solanum crinitioes*, *Solanum dolichosepalum*, *solanum mammosun* y *Solanum barbeyanum* presentaron en su mayoría metabolitos secundarios similares <sup>21,24,26,27</sup>. Esto conllevaría de manera favorable a utilizar este recurso vegetal para tratar diferentes dolencias en beneficio de la población, ya que en la actualidad contamos con un gran número de especies del genero *Solanum* con propiedades medicinales.

En el ensayo microbiológico para determinar el efecto antibacteriano in vitro del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Solanum aphyodendron* S. Knapp, se apreció según la **tabla 4** que *Salmonella enteritidis* ATCC 13076 no presentó inhibición a las concentraciones de 25 %, 50 % y 90 %, ya que el halo determinado fue de 6 mm. Además, se evidenció que los 3 grupos experimentales no presentaron diferencias estadísticamente significativas ( $p>0.05$ ) por las pruebas estadísticas de ANOVA y Tukey. Por lo tanto, según la escala de Duraffourd esta cepa bacteriana tiene sensibilidad nula para los 3 extractos en investigación.

Asimismo Espinoza G, et al (2021)<sup>40</sup>, determinaron en un estudio realizado que *Solanum sessiliflorum* Dunal presentó actividad sobre *Salmonella enteritidis* y *Staphylococcus aureus*, siendo el halo de inhibición para el primero de 9,49 mm a la concentración de 75 % y el segundo a las concentraciones de 25 %, 50 % y 75 % presentó halos de inhibición de 7,42 mm, 9,35 mm y 11,16 mm respectivamente. Además Huayhua H, et al. (2021)<sup>41</sup>, en un trabajo de investigación sobre el efecto antibacteriano de *Solanum juzepczukki* (tunta) determinaron que *Salmonella entérica* subsp. entérica serovar presentó un halo de inhibición media de 10,40 mm a 30 ul de extracto de tunta.

Por otro lado, en el ensayo microbiológico in vitro para determinar el efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Solanum aphyodendron* S. Knapp (olmish) a las concentraciones de 25 %, 50 % y 90 % frente a cepas de *Shigella sonnei* ATCC 25931, evidenció que el extracto al 25 % generó un halo de inhibición medio de 9,50 mm, seguido de los extractos al 50 % y 90 % con halos de inhibición medios de 10,59 y 12,37 mm respectivamente.

Además, se evidenció que los 3 grupos experimentales presentaron diferencias estadísticamente significativas ( $p<0.05$ ) por las pruebas estadísticas de ANOVA y Tukey. Por lo tanto, según la escala de Duraffourd esta cepa bacteriana tiene una sensibilidad límite para los 3 extractos.

De igual manera Guzman W. (2014)<sup>42</sup>, en un estudio de investigación determino la actividad antibacteriana a la especie *Solanum nigrum* L. observando que a la concentración de 300 mg/ml los halos de inhibición fueron 11,3, 11,6, 16,2 y 13,6 mm; para *Salmonella entérica subsp, entérica*, *Escherichia coli*, *Shigella sonnei* y *Proteus hauseri*, respectivamente

Finalmente, en el ensayo microbiológico in vitro para determinar el efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Solanum aphyodendron* S. Knapp (olmish) a las concentraciones de 25 %, 50 % y 90 % frente a cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922, se evidenciaron que los extractos al 25 % y 50 % generaron un halo de inhibición medio de 6,00 mm para cada uno respectivamente, asimismo un halo de inhibición de 6.95 mm para el extracto al 90 %.

Además, se evidenció que los 3 grupos experimentales no presentaron diferencias estadísticamente significativas ( $p > 0.05$ ) por las pruebas estadísticas de ANOVA y Tukey. Por lo tanto, según la escala de Duraffourd esta cepa bacteriana tiene sensibilidad nula para los 3 extractos en investigación.

Según Paz S. (2018)<sup>43</sup>, al realizar un estudio a la especie *Solanum Tuberosum* (papa fermentada), determinó que el extracto acuoso a las concentraciones de 25, 50 y 100 % no presentó efecto antibacteriano al someterlos en ensayo microbiológico con *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, ya que se observó un halo de inhibición de 0 mm. Con esto se podría decir que las cepas de *Escherichia coli* son resistentes a algunos extractos.

Por su parte Cañon T, et al (2018)<sup>26</sup>, reportaron en su investigación microbiológica que las cepas de *Escherichia coli* no presentaron sensibilidad a los extractos de tallos, hojas y frutos de *Solanum crinitipes*, mientras que para *Staphylococcus aureus* fue una actividad baja para el extracto de hojas.

Según los estudios realizados se pudo evidenciar que la especie *Solanum* como tal presenta efecto antibacteriano sobre bacterias Gram positivas y Gram negativas en mayor o menor proporción, dicha acción se debe a los metabolitos secundarios que esta presenta. Esta actividad bacteriana dependerá del solvente y de que parte de la planta se utiliza <sup>826,29,42</sup>.

Una de las limitaciones del presente estudio corresponde a la escasa información científica con aplicaciones microbiológicas de la especie *Solanum aphyodendron* S. Knapp (olmish), que imposibilita hacer comparaciones específicas y exactas. Por ello se procedió a analizar sobre las mismas especies.

## 4.2 Conclusiones

Los estudios realizados en el presente trabajo nos permiten llegar a las siguientes conclusiones:

- El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Solanum aphyodendron* S. Knapp (olmish) presentó efecto antibacteriana in vitro frente a cepas de *Shigella sonnei* pero no presentó efecto antibacteriana frente a cepas de *Salmonella enteritidis* ni de *Escherichia coli*.
- Los metabolitos secundarios que se detectaron en la prueba de tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Solanum aphyodendron* S. Knapp (olmish) fueron los compuestos fenólicos, alcaloides y lactonas  $\alpha$ ,  $\beta$  insaturadas, siendo estos los responsables de causar el efecto antibacteriano.
- La concentración del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Solanum aphyodendron* S. Knapp (olmish) que posee efecto antibacteriano in vitro frente a las cepas de *Shigella sonnei* son al 25 %, 50 % y 90 %, mientras que no hubo concentración que generó halo de inhibición frente a *Salmonella enteritidis* y a *Escherichia coli*.
- El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Solanum aphyodendron* S. Knapp (olmish) al 25 %, 50 % y 90 % no superan el efecto inhibidor del Ciprofloxacino 5 ug frente a las tres bacterias gramnegativas (*Salmonella Enteritidis*, *Shigella sonnei* y *Escherichia coli*).

### 4.3 Recomendaciones

- Se recomienda realizar una investigación a las hojas de *solanum aphyodendron* S. Knapp (olmish) sobre bacterias Grampositivas.
- Asimismo realizar un trabajo de investigación a las hojas de *solanum aphyodendron* S. Knapp (olmish) sobre la actividad citotóxica y antioxidante.
- Por otro lado realizar un análisis fitoquímico para determinar cuantitativamente y estructuralmente qué metabolitos secundarios están presentes en las hojas de *Solanum aphyodendron* S. Knapp.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Zuñiga I, Caro J. Enfermedades transmitidas por los alimentos: una mirada puntual para el personal de salud. *Enf Infec Microbiol* [Internet]. 2017 [Acceso: 27/10/2021] 37(3):95-104. disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/micro/ei-2017/ei173e.pdf>
2. Povea E, Hevia D. La enfermedad diarreica aguda. *Rev Cubana Pediatr* [Internet]. 2019 [Acceso: 27/10/2021] 91(4):1-5. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/ped/v91n4/1561-3119-ped-91-04-e928.pdf>
3. Organización Mundial de la Salud. Inocuidad de alimentos [Internet]. 2020 [Acceso: 28/10/2021]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/food-safety>
4. Organización Mundial de la Salud. Enfermedades diarreicas [Internet]. 2017 [Acceso:28/10/2021]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/diarrhoeal-disease>
5. Centro Nacional de Epidemiología Prevención y Control de Enfermedades, Ministerio de Salud. Boletín Epidemiológico del Perú [Internet]. 2021 [Acceso: 28/10/2021]. Disponible en: [https://www.dge.gob.pe/epipublic/uploads/boletin/boletin\\_202131\\_08\\_14\\_3402.pdf](https://www.dge.gob.pe/epipublic/uploads/boletin/boletin_202131_08_14_3402.pdf)
6. Roque M. Frecuencia de *Escherichia coli* diarreogénicas aisladas en niños en un hospital pediátrico en Lima-Perú. *Ciencia e investigación* [Internet]. 2017 [Acceso: 28/10/2021]. 20(2): 23-28. Disponible en: <https://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/farma/article/view/14807/12978>
7. Medina M. “Incidencia de bacterias enteropatógenas aisladas de pacientes de los establecimientos de Salud de la Red Chiclayo, Lambayeque y su sensibilidad a los antimicrobianos. Enero-Setiembre 2018”. [Tesis para optar el título profesional de licenciada en biología-microbiología-parasitología]. Lambayeque: Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo; 2019. Disponible en: <https://repositorio.unprg.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12893/5927/BC-4261%20MEDINA%20HUANCAS.pdf?sequence=3&isAllowed=y>

8. Lock O. Investigación fitoquímica. Métodos en el estudio de productos naturales. 3a ed. Lima. Departamento Académico de Ciencias de la Pontificia Universidad Católica del Perú. 2016.
9. Särkinen T, Baden M, Gonzáles P, Cueva M, Giacomini L, Spooner D, et al. Listado anotado de *Solanum* L. (Solanaceae) en el Perú. Revista peruana de biología [Internet]. 2015 [Acceso: 29/10/2021]. 22(1):003-062. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rpb/v22n1/a01v22n1.pdf>
10. Tafur V, Tello E, Rodríguez D, Orellana Y, Borges J. Uso medicinal del *Solanum nigrum* y su relación con la presencia de metabolitos secundarios. Agroind. Socied. Ambiente [Internet]. 2020 [Acceso: 03/11/2021]. 1(14):158-176. Disponible en: <https://revistas.uclave.org/index.php/asa/article/view/2837>
11. Ferrer A, Alves V, Silva A, Ortiz-Del Toro P, Torres M, Ariades M. Estudio fitoquímico de los compuestos esteroidales de *Solanum acanthodes* Hook F. (fruto del lobo), familia *Solanaceae*. Revista cubana de plantas medicinales [Internet]. 2020 [Acceso: 03/11/2021]. 25(3). Disponible en: <http://www.revplantasmedicinales.sld.cu/index.php/pla/article/view/794/446>
12. Rivas N, Dueñas A, Rodríguez J. Metabolitos secundarios y actividad antioxidante del tomatillo silvestre (*Solanum pimpinellifolium* L.). Rev. Téc. Ing. Univ. Zulia [Internet]. 2020 [Acceso: 03/11/2021]. 43(2):26-32. Disponible en: <https://produccioncientificaluz.org/index.php/tecnica/article/view/33614>
13. Ruiz-Roldán L, Martínez-Puchol S, Gomes C, Palma M, Riveros M, Ocampo K, et al. Presencia de *Enterobacteriaceae* y *Escherichia coli* multiresistente a antimicrobianos en carne adquirida en mercados tradicionales en Lima. Revista Peruana de Medicina Experimental y Medicina Pública [internet]. 2018 [Acceso: 03/11/2021]. 35(3):425-432. disponible en: <https://rpmesp.ins.gob.pe/rpmesp/article/view/3737/3120>
14. Rosado-Porto D, Bonivento-Calvo J, Salcedo-Mendoza S, Molina-Castillo A, Maestre-Serrano R, García-Cuan A. Determinación de *E. coli* biotipo 1 y *E. coli* O157:H7 en canal de carne bovina en plantas de beneficio del departamento del Atlántico (Colombia). Rev. Investig. Vet.

- Perú [Internet]. 2021 [Acceso: 03/11/2021]. 32(3). Disponible en: [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1609-91172021000300027&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172021000300027&lng=es&nrm=iso&tlng=es)
15. Alfaro-Mora R. Aspectos relevantes sobre *Salmonella sp* en humanos. Revista Cubana de Medicina Integral [Internet]. 2018 [Acceso: 03/11/2021]. 34(3). Disponible en: <http://www.revmgi.sld.cu/index.php/mgi/article/view/957/208>
  16. Inga P. Características microbiológicas de shigelosis en menores de 5 años atendidos en hospital Carlos Alcantara Buterfield 2019. [Tesis para optar el título de especialista en microbiología clínica]. Lima: Universidad Peruana Cayetano Heredia; 2019. Disponible en: [https://repositorio.upch.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12866/7335/Caracteristicas\\_IngaPena\\_Pascuala.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://repositorio.upch.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12866/7335/Caracteristicas_IngaPena_Pascuala.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
  17. Pachay J. Las infecciones bacterianas y su resistencia a los antibióticos. Caso de estudio: Hospital Oncológico “Dr. Julio Villacreses Colmont Solca”, Portoviejo. Universidad y Sociedad [Internet]. 2018 [Acceso: 04/11/2021]. 10(5):219-223. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/rus/v10n5/2218-3620-rus-10-05-219.pdf>
  18. Rodríguez E, Gonzáles S, Velásquez L, Izquierdo E. Catálogo de *Solanaceae* de la región la Libertad, Perú. Arnaldoa [Internet]. 2020 [Acceso: 04/11/2021]. 27(2):497-534. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/arnal/v27n2/2413-3299-arnal-27-02-497.pdf>
  19. Cuevas L. Taxonomía en la familia *Solanaceae* en el municipio de Coacoatzintla, Veracruz, México. [Tesis de Experiencia Recepcional]. Veracruz: Universidad Veracruzana; 2018. Disponible en: [https://www.uv.mx/iib/files/2018/05/LCR\\_Tesis\\_Solanaceae.pdf](https://www.uv.mx/iib/files/2018/05/LCR_Tesis_Solanaceae.pdf)
  20. Murillo-Pérez G, Rodríguez A. Claves dicotómicas para las especies de *Solanum* (Solanaceae) en Mexico. Bot. Sci. [Internet]. 2021 [Acceso: 05/11/2021]. 99(2):413-446. Disponible en: [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S2007-42982021000200413&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S2007-42982021000200413&script=sci_arttext)
  21. García J, Laos D, Vega N, Bendezú M, Yarasca P, Guillermo J, et al. Actividad antioxidante y antimicrobiana del extracto etanólico de las partes aéreas de *Solanum radicans* L.F. “huallpachaqui”. Rev Soc Quím

- Perú [Internet]. 2020 [Acceso: 05/11/2021]. 86(1):5-12. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rsqp/v86n1/2309-8740-rsqp-86-01-5.pdf>
22. Villalobos C. Efecto antibacteriano in vitro de los extractos etanólicos de *Cinchona officinalis* (cascarilla) y *Solanum nigrum* (hierba mora) sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. [Tesis para obtener el título profesional de Cirujano Dentista]. Piura: Universidad César Vallejo; 2019. Disponible en: [https://repositorio.ucv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12692/40091/Villalobos\\_JCA.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://repositorio.ucv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12692/40091/Villalobos_JCA.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
23. Cachi K, Cueva M. Comparación del efecto antibacteriano del aceite esencial y del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Solanum nigrum* L. "hierba mora" en cepas de *Pseudomonas aeruginosa*. [Tesis para obtener el título profesional de Químico Farmacéutico]. Cajamarca: Universidad Privada Antonio Guillermo Urrelo; 2018. Disponible en: <http://repositorio.upagu.edu.pe/bitstream/handle/UPAGU/803/FyB-019-2018.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
24. Ramón-Valderrama J, Galeano-García P. Actividad antioxidante y antimicrobiana de extractos metanólicos de hojas de plantas del género *Solanum*. Información Tecnológica [Internet]. 2020 [Acceso: 05/11/2021]. 31(5):33-42. Disponible en: <https://www.scielo.cl/pdf/infotec/v31n5/0718-0764-infotec-31-05-33.pdf>
25. Heredia-Ortíz C. Y, Orozco-Guerrero M. L, Pérez-Rubiano C, Martín G. D.A. Actividad antibacteriana de extractos alcohólicos de las hojas de *Solanum dolichosepalum* (Bitter). Informador Técnico [Internet]. 2019 [Acceso: 05/11/2021]. 83(2):121-130. Disponible en: [http://revistas.sena.edu.co/index.php/inf\\_tec/article/view/2061/2611](http://revistas.sena.edu.co/index.php/inf_tec/article/view/2061/2611)
26. Cañón T, Menco M. Estudio fitoquímico de la especie vegetal *Solanum crinitipes* Dunal (*Solanaceae*) y evaluación de uso como agente antimicrobiano. [Tesis para optar el título profesional de Químico Farmacéutico]. Bogotá: Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales; 2018. Disponible en: <https://repository.udca.edu.co/bitstream/handle/11158/993/ESTUDIO%20FITOQU%20C3%8DMICO%20DE%20LA%20ESPECIE%20VEGETAL%20Solanum%20crinitipes%20Dunal%20%28Solanaceae%29%20Y%20EV>

[ALUACI%C3%93N%20DE%20USO%20COMO%20AGENTE%20ANTIMICROBIANO%20%281%29.pdf?sequence=1&isAllowed=y](#)

27. Hernández R, Fernández C, Baptista M. Metodología de la investigación. 6a ed. México. McGraw-Hill Education. 2014.
28. Arispe C, Yangali J, Guerrero M, et al. La investigación científica. Guayaquil. UIDE. 2020.
29. Vilchez H, Cervantes L. Evaluación del efecto antibacteriano sinérgico de rifampicina en propóleo sobre bacterias grampositivas. Revista Cubana de Medicina Militar [Internet]. 2021 [Acceso: 15/11/2021]. 50(3). Disponible en: <http://www.revmedmilitar.sld.cu/index.php/mil/article/view/1336/1026>
30. Morales-Ubaldo A, Hernandez-Alvarado J, Valladares-Carranza B, Velasquez-Ordoñez V, Delgadillo-Ruiz L, Rosenfeld-Miranda C, et al. Actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico *Croton draco* sobre bacterias de importancia sanitaria. Abanico Vet. [Internet]. 2020 [Acceso: 15/11/2021]. 10(1):1-10. Disponible en: [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2448-61322020000100101](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2448-61322020000100101)
31. Díaz M, Díaz R. Efecto antibacteriano in vitro del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Moringa oleífera* Lam (moringa) frente a la cepa de *Staphylococcus aureus*. [Tesis para optar el título profesional de Químico Farmacéutico]. Lima: Universidad María auxiliadora; 2021.
32. Cuevas M, Flores K. Efecto antipirético del extracto hidroalcohólico de la corteza de *Colletia spinosissima* L.J.F. Gmel (tacsana) en ratas albinas. [Tesis para optar el título profesional de Químico Farmacéutico y Bioquímico]. Lima: Universidad Inca Garcilaso de la Vega; 2019.
33. Dávila E. Efecto antibacteriano in vitro del extracto alcohólico y aceite esencial del *Zingiber officinale* “jengibre” sobre el *Streptococcus mutans* cepa ATCC 25175. [Tesis para optar el título profesional de Odontólogo]. Riobamba: Universidad Nacional de Chimborazo; 2018.
34. Mendoza P, Aguirre D. efecto antibacteriano in vitro del extracto hidroalcohólico de *Equisetum giganteum* L. (cola de caballo) frente a cepas de *Salmonella enteritidis* y *Shigella dysenteriae*. [Tesis para optar

- el título profesional de Químico Farmacéutico]. Lima: Universidad María Auxiliadora; 2022.
35. Morillo J, Balseca M. Eficacia inhibitoria del aceite esencial de *Cymbopogon citratus* sobre cepas de *Porphyromona gingivalis*: Estudio in vitro. RO. [Internet]. 2018 [Acceso: 03/03/2022]. 20(2):5-13. Disponible en:  
<https://revistadigital.uce.edu.ec/index.php/odontologia/article/view/1470/1425>
  36. Sanchez E, Saavedra W. Actividad antibacteriana in vitro del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Senecio canescens* Humb. & Bonpl. (wila wila) frente a cepas de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. [Tesis para optar el título profesional de Químico Farmacéutico]. Lima: Universidad María Auxiliadora; 2022.
  37. Villavicencio B, Sarmiento J, Flores C, Torrachi J. Efecto antimicrobiano in vitro de extractos de *Caesalpinia spinosa* sobre cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a antibióticos betalactámicos. Odontol. Sanmarquina [Internet]. 2021 [Acceso: 16/11/2021]. 24(3):205-214. Disponible en:  
<https://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/odont/article/view/18433>
  38. Mendoza J. Actividad antifúngica del extracto etanólico de las hojas de *Solanum hispidum* Pers y citotoxicidad en líneas celulares de cáncer humano. [Tesis para optar el grado académico de Magister en Recursos Vegetales y Terapéuticos]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2022.
  39. Chang L, García L, Rosabal Y, Espinoza A, Ramos M, et al. Caracterización fitoquímica y la evaluación de la actividad antibacteriana in vitro de los extractos de las hojas y tallos *Solanum nigrum* L. que crece en Cuba. Rev. mex. cienc. Farm [Internet]. 2013 [acceso: 10/03/2022]. 44(4):30-35. Disponible en:  
[http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1870-01952013000400004](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1870-01952013000400004)
  40. Espinoza G, Robles P. Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de la cascara de *Solanum sessiliflorum* Dunal (cocona) frente a

- las cepas de salmonella enteritidis y Staphylococcus aureus. [Tesis para optar el título profesional de Químico Farmacéutico]. Lima: Universidad maría auxiliadora; 2021.
41. Huayhua H, Garcia R. Efecto antimicrobiano de la tunta (*Solanum Juzepczukki*) sobre *Salmonella entérica* subespecie entérica serovar typhimurium. Rev. investig. Altoandin. [Internet]. 2021 [Acceso: 11/03/2021]. 23(1):37-46. Disponible en: [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S2313-29572021000100037&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S2313-29572021000100037&script=sci_arttext)
42. Guzman W. Actividad del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Solanum nigrum* L. “toamtillo” frente a cepas de bacterias Gram negativas. (Tesis para optar el título profesional de Químico Farmacéutico). Ayacucho: Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga; 2014.
43. Paz S. Efecto antimicrobiano in vitro del extracto acuoso de *Solanum tuberosum* “papa fermentada” sobre *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. [Tesis para obtener el título profesional de Licenciada en Nutrición]. Trujillo: Universidad Cesar Vallejo; 2018.

## **ANEXOS**

**ANEXO A:** Operacionalización de las variables

VARIABLES	TIPO DE VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	DIMENSIONES	INDICADORES	N° DE ITEMS	VALOR FINAL	CRITERIOS
<b>VARIABLE INDEPENDIENTE:</b> Extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Solanum aphyodendron</i> S. Knapp (olmish).	Cualitativo	Sustancia obtenida de la mezcla de las hojas de <i>Solanum aphyodendron</i> con una solución de etanol y agua.	Extracto hidroalcohólico es la forma práctica de concentrar y obtener los principios activos que sintetizan los recursos vegetales.	Tamizaje fitoquímico	Identificación de metabolitos secundarios.	4	(+++) Abundante (++) Moderado (+) Leve (-) Ausencia	Rango de presencia y ausencia
				Diluciones del extracto hidroalcohólico	Concentraciones específicas	3	25 % 50 % 90 %	Concentración final después de a dilución
<b>VARIABLE DEPENDIENTE:</b> Efecto antibacteriano in vitro sobre bacterias gramnegativas.	Cuantitativo	Conjunto de compuestos que eliminan o reducen el crecimiento bacteriano.	El efecto antibacteriano se determinará mediante el Método Kirby Bauer o método de difusión.	Inhibición de crecimiento bacteriano	Halos de inhibición (mm)	2	Crecimiento o sin crecimiento	Evidencia de inhibición de crecimiento

**Fuente:** Elaboración propio

## ANEXO B: Instrumentos de recolección de datos

### Solubilidad del extracto hidroalcohólico desecado

TUBOS	SOLVENTES	RESULTADOS
N° 1	Éter de petróleo	
N° 2	Diclorometano	
N° 3	Cloroformo	
N° 4	Butanol	
N° 5	Etanol 96	
N° 6	Etanol 70	
N° 7	Agua destilada	
N° 8	Dimetilsulfóxido	

**Fuente:** Elaboración propia

Dónde: (-) insoluble, (+) poco soluble, (++) soluble, (+++) muy soluble

Marcha fitoquímica del extracto hidroalcohólico de las hojas de olмыш

TUBOS	ENSAYOS	METABOLITOS	RESULTADOS
N° 1	Borntrager	Antraquinonas	
N° 2	Cloruro férrico	Compuestos fenólicos	
N° 3	Liebermann-Burchard	Terpenos y esteroides	
N° 4	Dragendorff	Alcaloides	
N° 5	Mayer	Alcaloides	
N° 6	Wagner	Alcaloides	
N° 7	Baljet	Lactonas $\alpha,\beta$ -insaturadas	
N° 8	Gelatina	Taninos	
N° 9	Gelatina-sal	Taninos	
N° 10	NaOH 10%	Antocianinas	
N° 11	Espuma	Saponinas	
N° 12	Shinoda	Flavonoides	

**Fuente:** Elaboración propia

Donde:(-) ausencia, (+) leve, (++) moderado, (+++) abundante

Resultados del análisis in vitro por el método de Kirby-Bauer

Ensayo microbiológico	Concentración del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Solanum aphyodendron</i> S. Knapp (olmish)			Ciprofloxacino (control)	Etanol (blanco)
	25 %	50 %	90 %	5 ug	70 %
<i>Salmonella enteritidis</i> ATCC 13076					
Halos de inhibición (mm)					
<b>Promedio</b>					
<i>Shigella sonnei</i> ATCC 25931					
Halos de inhibición (mm)					
<b>Promedio</b>					
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922					
Halos de inhibición (mm)					
<b>Promedio</b>					

**Fuente:** Elaboración propia.

Dónde: (-) sensibilidad nula, (+) sensible, (++) muy sensible, (+++) sumamente sensible.

## ANEXO C. Certificado de clasificación taxonómica

JOSÉ R. CAMPOS DE LA CRUZ  
CONSULTOR BOTÁNICO  
C.B.P. N° 3796  
Cel: 963689079  
Email: joramde@gmail.com



### CERTIFICACIÓN DE IDENTIFICACION BOTÁNICA

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

#### CERTIFICA:

Que, NAVARRO GONZALES, ROY ADONIS y BALTAZAR SALVADOR, KAREN NOELIA; tesis en la Universidad María Auxiliadora, Facultad de Ciencias de la Salud, Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, con fines de investigación han solicitado la identificación y certificación botánica de una planta procedente de la provincia de Junín, donde es conocida con el nombre vulgar de “olmish”, la muestra fértil con flores y frutos ha sido estudiada e identificada con el nombre científico de *Solanum aphyodendron* S. Knapp; según la base de Trópicos que sigue el Sistema moderno de clasificación de las angiospermas (APG), publicado en 1998 por el Grupo para la Filogenia de las Angiospermas, revisado por APG II (2003), APG III (2009) y APG IV (2016), este Sistema de clasificación considera a todas las plantas verdes en la Clase Equisetopsida (Chasse, MW y JL. Reavel. 2009), la muestra vegetal estudiada se ubica en las siguientes categorías taxonómicas.

**Reino: Plantae**

**División: Angiospermae**

**Clase: Equisetopsida**

**Subclase: Magnoliidae**

**Superorden: Asteranae**

**Orden: Solanales**

**Familia: Solanaceae**

**Género: Solanum**

**Especie: *Solanum aphyodendron* S. Knapp**

Nombre vulgar: “olmish”

Se expide la presente certificación con fines de investigación científica.

Lima, 06 de noviembre del 2021



*Jose R. Campos De La Cruz*  
José R. Campos De La Cruz  
BIOLOGO  
C.B.P. 3796

JR. SANCHEZ SILVA N° 156- piso 2. Urb. Santa Luzmila. Lima 07  
Email: joramde@gmail.com; joricampos@yahoo.es

**ANEXO D.** Certificado de análisis de *Salmonella enteritidis* ATCC 13076.

	
<b>Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release</b>	
<b>Specifications</b> <b>Microorganism Name:</b> Salmonella enterica subsp. enterica serovar Enteritidis (Group D) <b>Catalog Number:</b> 0345 <b>Lot Number:</b> 345-123** <b>Reference Number:</b> ATCC® 13076™** <b>Passage from Reference:</b> 2	<b>Expiration Date:</b> 2023/8/31 <b>Release Information:</b> <b>Quality Control Technologist:</b> Madison C Vogt <b>Release Date:</b> 2021/9/16
<b>Performance</b>	
<b>Macroscopic Features:</b> Medium, gray/white, circular, convex colonies <b>Microscopic Features:</b> Gram negative straight rod	<b>Medium:</b> SBAP <b>Method:</b> Gram Stain (1)
<b>ID System:</b> MALDI-TOF (1) See attached ID System results document.	<b>Other Features/ Challenges: Results</b> (1) Oxidase (Kovacs): negative Hektoen Enteric agar: good growth, blue-green colonies with black centers (1) Salmonella O antiserum Factor O:9 (Included in group D1): positive (1) Salmonella O antiserum Factor O:12 (Included in group D1): positive   Amanda Kuperus Director of Quality Control AUTHORIZED SIGNATURE
<p>**Disclaimer: The last digit(s) of the lot number appearing on the product label and packing slip are merely a packaging event number. The lot number displayed on this certificate is the actual base lot number.</p> <p> Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information.</p> <p>Individual products are traceable to a recognized culture collection.</p> <div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div style="text-align: center;">                   ACCREDITED                  REFERENCE MATERIAL PRODUCER                  CERT #2455.02             </div> <div style="text-align: center;">                   ATCC Licensed Derivative             </div> <div style="text-align: center;"> <p>(*) The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC, Microbiologics, Inc. is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures.</p> <p>(†) These tests are accredited to ISO/IEC 17025.</p> </div> </div> <div style="text-align: center; margin-top: 20px;">                   ACCREDITED                  TESTING CERT #2655.01             </div>	

Activ  
Ir a Co

ANEXO E. Certificado de análisis de *Shigella sonnei* ATCC 25931.



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

<b>Specifications</b> Microorganism Name: <i>Shigella sonnei</i> Catalog Number: 0303 Lot Number: 303-94** Reference Number: ATCC® 25931™* Passage from Reference: 2	Expiration Date: 2022/5/31 Release Information: Quality Control Technologist: Mary L Bowman Release Date: 2020/7/7
---	---

<b>Performance</b>	
<b>Macroscopic Features:</b> Two colony types (both are large and can spread): circular, convex, light gray, smooth and other type is irregular, raised, darker gray, and rough, (spreads more than other colony type). <b>Microscopic Features:</b> Gram negative straight rod	<b>Medium:</b> SBAP  <b>Method:</b> Gram Stain (1)
<b>ID System: Vitek GN (1)</b> See attached ID System results document.	<b>Other Features/ Challenges: Results</b> (1) Oxidase (Kovacs): negative Hektoen Enteric agar: good growth, colorless to blue-green colonies Shigella Antiserum Poly Group D: positive Motility (Wet Mount): negative   Amanda Kuperus Director of Quality Control AUTHORIZED SIGNATURE

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

Note for Vitek®: Although the Vitek® panel uses many conventional tests, the unique environment of the card, combined with the short incubation period, may produce results that differ from published results obtained by other methods.

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

Individual products are traceable to a recognized culture collection.



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

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



Activ  
 In a Cor

ANEXO F. Certificado de análisis de *Escherichia coli* ATCC 25922



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

<b>Specifications</b> Microorganism Name: <i>Escherichia coli</i> Catalog Number: 0335 Lot Number: 335-506** Reference Number: ATCC® 25922™* Passage from Reference: 3	<b>Expiration Date:</b> 2022/3/31 <b>Release Information:</b> Quality Control Technologist: Mary L. Bowman Release Date: 2020/4/8
---	--

<b>Performance</b>	
<b>Macroscopic Features:</b> 2 colony types, both are gray & beta hemolytic; one is circular to irregular, convex, slightly erose edge & smooth; other is larger, irregular, low convex, erose edge & rough <b>Microscopic Features:</b> Gram negative straight rod	<b>Medium:</b> SBAP  <b>Method:</b> Gram Stain (1)
<b>ID System:</b> MALDI-TOF (1) See attached ID System results document.	<b>Other Features/ Challenges: Results</b> (1) Oxidase (Kovacs): negative Beta-glucuronidase (E. coli Broth w/MUG): positive (1) Ampicillin (10 mcg - Disk Susceptibility): 15 - 22 mm (1) Gentamicin (10 mcg - Disk Susceptibility): 19 - 26 mm (1) SXT (1.25/23.75 mcg - Disk Susceptibility): 23 - 29 mm  <div style="text-align: right;">                       Amanda Kuperus                      Quality Control Manager                      AUTHORIZED SIGNATURE                 </div>

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

Note for Vitek®: Although the Vitek® panel uses many conventional tests, the unique environment of the card, combined with the short incubation period, may produce results that differ from published results obtained by other methods.

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

Individual products are traceable to a recognized culture collection.



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

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



Activ  
In a Co

**ANEXO G.** Certificado del ensayo microbiológico del extracto hidroalcohólico de las hoja de *Solanum aphyodendron* S. Knapp (olmish) sobre cepas de *Salmonella Enteritidis*, *Shigella sonnei* y *Escherichia coli*.



\*Año del Fortalecimiento de la Soberanía Nacional\*

### Informe de Resultados

Solicitado por: Bach. NAVARRO GONZALES, Roy Adonis  
 Bach. BALTAZAR SALVADOR, Karen Noelia  
 Muestra: EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LAS HOJAS DE  
*Solanum aphyodendron* S. KNAPP (OLMISH)  
 Cantidad: 26.2 gr  
 Fecha de ensayo: 18-03-2022

Microorganismo	Diámetros de inhibición en mm				
	90%	50%	25%	Ciprofloxacino 5ug	Etanol 70 <sup>o</sup>
<i>Salmonella enteritidis</i> ATCC 13076	6	6	6	33.73	6
	6	6	6	33.78	6
	6	6	6	33.75	6
	6	6	6	33.75	6
	6	6	6	33.73	6
Microorganismo	Diámetros de inhibición en mm				
	90%	50%	25%	Ciprofloxacino 5ug	Etanol 70 <sup>o</sup>
<i>Shigella sonnei</i> ATCC 25931	12.39	10.60	9.51	37.00	6
	12.38	10.61	9.50	37.01	6
	12.35	10.58	9.48	37.00	6
	12.38	10.57	9.52	37.10	6
	12.36	10.60	9.50	37.03	6
Microorganismo	Diámetros de inhibición en mm				
	90%	50%	25%	Ciprofloxacino 5ug	Etanol 70 <sup>o</sup>
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	6.95	6	6	35.30	6
	6.94	6	6	35.32	6
	6.95	6	6	35.30	6
	6.97	6	6	35.25	6
	6.95	6	6	35.29	6

\*Tamaño de discos: 6mm, por lo que al reportarse 6 mm es indicativo que no existe formación halo de inhibición

\*Concentración del inóculo:  $1.5 \times 10^8$  UFC/mL.

  
 Lic. T.M. Walter A. Siri Rodriguez  
 CTMP. 10808

## ANEXO H. Resolución de proyecto de investigación



UNIVERSIDAD MARÍA AUXILIADORA

RESOLUCION N° 081-2022-FCSA-UMA

Lima, 07 de febrero del 2022

### EL DECANO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD DE LA UNIVERSIDAD MARIA AUXILIADORA

Visto: El informe de conformidad N°031E-UDI-FYB-UMA/2022 Mg. Gerson Córdova Serrano del Proyecto de Tesis presentado por los Bachilleres en Farmacia y Bioquímica, Roy Adonis Navarro Gonzáles y Karen Noelia Baltazar Salvador.

#### CONSIDERANDO:

Que, mediante el expediente presentado Roy Adonis Navarro Gonzáles y Karen Noelia Baltazar Salvador, egresado de la Carrera Profesional de Farmacia y Bioquímica solicita la aprobación del Proyecto de Tesis "EFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LAS HOJAS DE Solanum aphyodendron S. KNAPP (OLMISH) SOBRE BACTERIAS GRAMNEGATIVAS".

Que, el mencionado documento cuenta con la aprobación del Mg. Gerson Córdova Serrano, quien ha revisado el Proyecto de Tesis realizando las observaciones, correcciones y aprobación correspondiente, emiten el Dictamen favorable y su inscripción correspondiente;

Que, en tal sentido se inscribe el presente Proyecto de Tesis al libro de Inscripción de Proyecto de Tesis en la Oficina de Grados y Títulos;

Que, con tal motivo es menester dictar la resolución correspondiente;

Estando el Dictamen de la Comisión Revisora del Proyecto de Tesis en concordancia con las disposiciones reglamentarias vigentes, y en uso de las atribuciones a este Decanato, por la Ley Universitaria 30220, y el Estatuto de la Universidad;

#### RESUELVE:

**PRIMERO.** - APROBAR el Proyecto de Tesis: "EFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LAS HOJAS DE Solanum aphyodendron S. KNAPP (OLMISH) SOBRE BACTERIAS GRAMNEGATIVAS", presentado por los Bachilleres de la Carrera Profesional de Farmacia y Bioquímica.

**SEGUNDO.** - DEJAR ESTABLECIDO que los bachilleres están en condiciones de continuar con el trámite respectivo para optar el Título Profesional, debiendo sujetarse a las disposiciones contenidas en el Reglamento de Grados y títulos, teniendo en cuenta los plazos aprobados.

REGÍSTRESE, COMUNÍQUESE Y ARCHÍVESE



Dr. Jhonnell Samaniego Joaquín  
Decano de la Facultad de Ciencias de la Salud  
Universidad María Auxiliadora

## ANEXO I. Evidencias del trabajo de campo



**Figura 3.** Selección y limpieza de las hojas de *Solanum aphodendron* S. Knapp (olmish)

**Fuente:** Elaboración propia



**Figura 2.** Lavado de las hojas de olmish que están en buen estado

**Fuente:** Elaboración propia



**Figura 4.** Secado de las hojas limpias

**Fuente:** Elaboración propia



**Figura 5.** Molienda de las hojas secas de olmish

**Fuente:** Elaboración propia

Agregado del extracto molido al frasco



Adicionado de etanol 70 %



Homogenizado



**Figura 6.** Preparación del macerado

**Fuente:** Elaboración propia



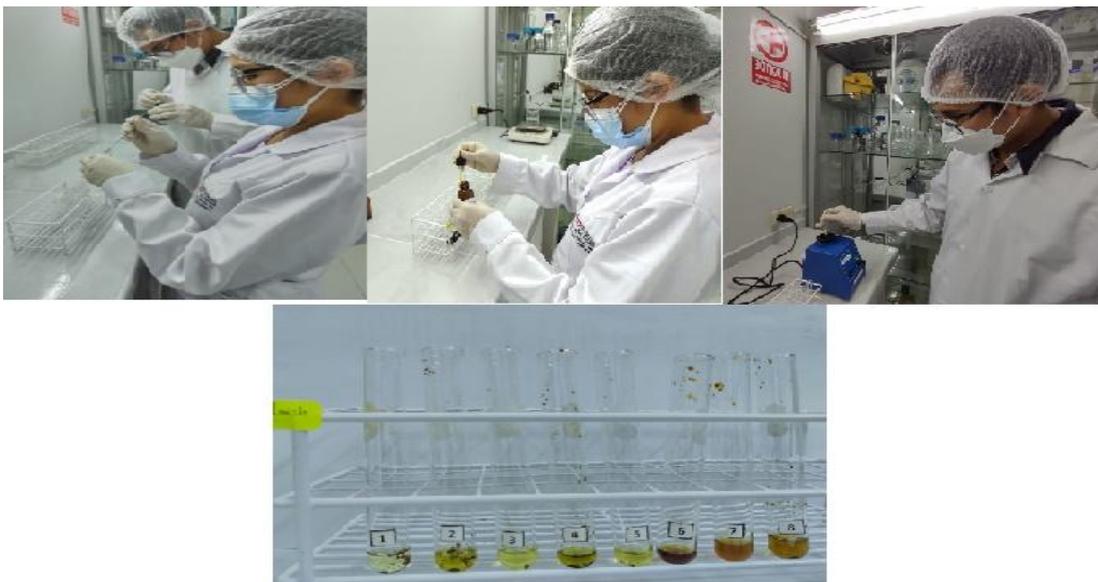
**Figura 7.** Filtrado del macerado

**Fuente:** Elaboración propia



**Figura 8.** Obtención del extracto seco de las hojas de *Solanum aphodendron* S. Knapp (olmish)

**Fuente:** Elaboración propia



**Figura 9.** Ensayo de solubilidad del extracto seco de olmish

**Fuente:** Elaboración propia



**Figura 10.** Ensayo fitoquímico del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Solanum aphyodendron* S Knapp (olmish)

**Fuente:** Elaboración propia



**Figura 11.** Preparación del medio de cultivo, Agar Mueller Hinton

**Fuente:** Elaboración propia



**Figura 12.** Preparación del inoculo y el estándar 0,5 McFarland

**Fuente:** Elaboración propia



**Figura 13.** Siembra en placas de *Salmonella enteritidis*, *Shigella sonnei* y *Escherichia coli*

**Fuente:** Elaboración propia



**Figura 14.** Preparación de discos del extracto hidroalcohólico de las hojas de olmish a las concentraciones de 25 %, 50 % y 90 %

**Fuente:** Elaboración propia



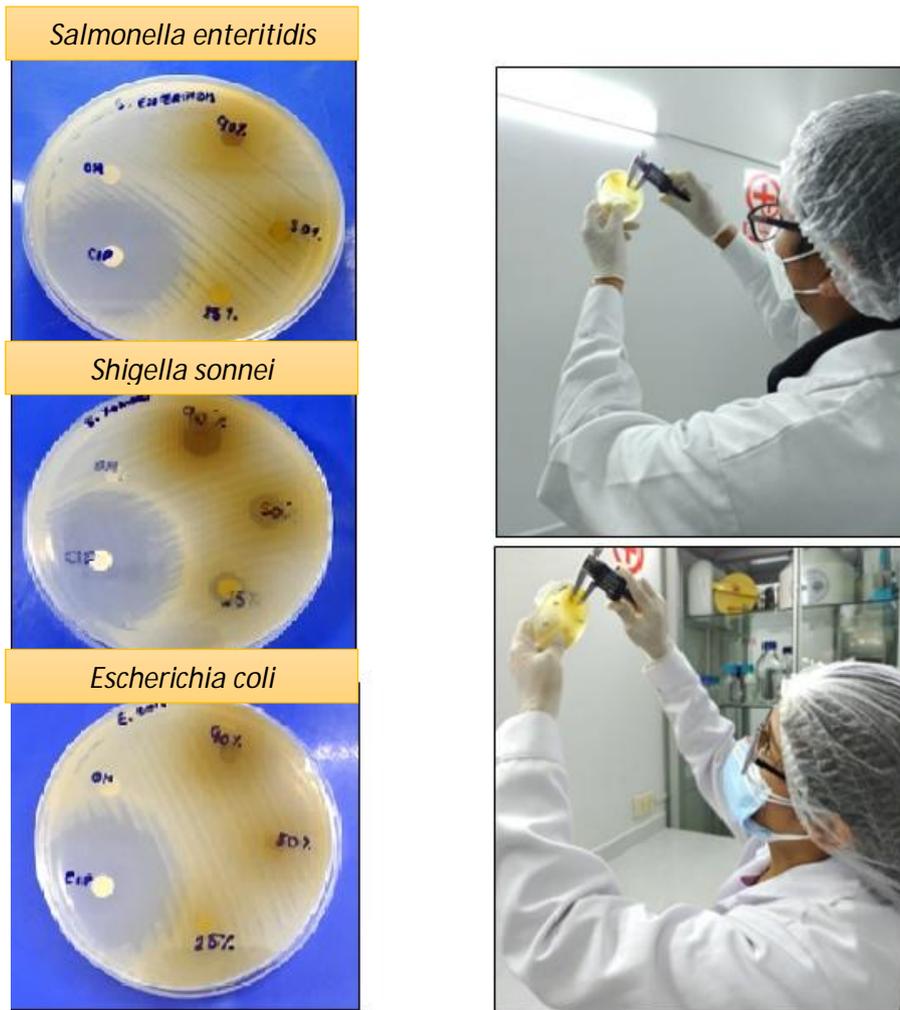
**Figura 15.** Colocación de los discos sobre las placas sembradas con las bacterias Gram negativas

**Fuente:** Elaboración propia



**Figura 16.** Incubación de las placas conteniendo el extracto hidroalcohólico de olmish y las cepas bacterianas

**Fuente:** Elaboración propia



**Figura 17.** Lectura de los resultados y medición de los halos de inhibición con un calibrador Vernier

**Fuente:** Elaboración propia