

DECLARACIÓN JURADA DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD

Yo, QUISPE BAEZ SOLEDAD, con DNI 73943573 en mi condición de autora de la tesis/ trabajo de investigación/ trabajo académico) presentada para optar el TITULO PROFESIONAL de (grado o título profesional que corresponda) de título "ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO ACUOSO DE VACCINIUM CORYMBOSUM L (ARANDANO AZUL) FRENTE A ESCHERICHIA COLI ATCC 25922 Y PROTEUS MIRABILIS ATCC 29906 ", AUTORIZO a la Universidad María Auxiliadora (UMA) para publicar de manera permanente e indefinida en su repositorio institucional, bajo la modalidad de acceso abierto, el archivo digital que estoy entregando, en cumplimiento a la Ley N°30035 que regula el Repositorio Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación de acceso abierto y su respectivo Reglamento.

Asimismo, DECLARO BAJO JURAMENTO que dicho documento es ORIGINAL con un porcentaje de similitud de CATORCE PORCIENTO (14 %) y que se han respetado los derechos de autor en la elaboración del mismo. Además, recalcar que se está entregado la versión final del documento sustentado y aprobado por el jurado evaluador.

En señal de conformidad con lo autorizado y declarado, firmo el presente documento a los 24 días del mes de octubre del año 2022.

Lima, 24 de octubre 2022.

SOLEDAD QUISPE BAEZ
DNI:73943573

MG. GLORIA TULA BRAVO ARAUJO
DNI:40863215

1. Apellidos y Nombres
2. DNI
3. Grado o título profesional
4. Título del trabajo de Investigación
5. Porcentaje de similitud

DECLARACIÓN JURADA DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD

Yo, SONCCO HUAYLLA_SARITA DAYSHALUZ, con DNI 77287257, en mi condición de autora de la tesis/ trabajo de investigación/ trabajo académico) presentada para optar el TITULO PROFESIONAL de (grado o título profesional que corresponda) de título "ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO ACUOSO DE VACCINIUM CORYMBOSUM L (ARANDANO AZUL) FRENTE A ESCHERICHIA COLI ATCC 25922 Y PROTEUS MIRABILIS ATCC 29906 ", AUTORIZO a la Universidad María Auxiliadora (UMA) para publicar de manera permanente e indefinida en su repositorio institucional, bajo la modalidad de acceso abierto, el archivo digital que estoy entregando, en cumplimiento a la Ley N°30035 que regula el Repositorio Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación de acceso abierto y su respectivo Reglamento.

Asimismo, DECLARO BAJO JURAMENTO que dicho documento es ORIGINAL con un porcentaje de similitud de CATORCE PORCIENTO (14 %) y que se han respetado los derechos de autor en la elaboración del mismo. Además, recalcar que se está entregado la versión final del documento sustentado y aprobado por el jurado evaluador.

En señal de conformidad con lo autorizado y declarado, firmo el presente documento a los 24 días del mes de octubre del año 2022.

Lima, 24, de octubre 2022.



SARITA DAYSHALUZ SONCCO HUAYLLA
ARAUJO

DNI:77287257



MG. GLORIA TULA BRAVO

DNI:40863215

6. Apellidos y Nombres
7. DNI
8. Grado o título profesional
9. Título del trabajo de Investigación
10. Porcentaje de similitud

Tesis final

INFORME DE ORIGINALIDAD



FUENTES PRIMARIAS

1	hdl.handle.net Fuente de Internet	4%
2	repositorio.ucv.edu.pe Fuente de Internet	3%
3	repositorio.uroosevelt.edu.pe Fuente de Internet	1%
4	intra.uigv.edu.pe Fuente de Internet	1%



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

**ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO
ACUOSO DE *Vaccinium corymbosum* L.
(ARÁNDANO AZUL) FRENTE A *Escherichia coli* ATCC
25922 Y *Proteus mirabilis* ATCC 29906**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE QUÍMICO
FARMACÉUTICO**

AUTORAS:

Bach. QUISPE BAEZ, SOLEDAD

<https://orcid.org/0000-0003-0577-0859>

Bach. SONCCO HUAYLLA, SARITA DAYSHALUZ

<https://orcid.org/0000-0002-9361-1956>

ASESOR:

Mg. BRAVO ARAUJO, GLORIA TULA

<https://orcid.org/0000-0002-8133-3370>

LIMA-PERÚ

2022

DEDICATORIA

A mi madre con todo mi corazón, pues sin ella no lo habría logrado y a todas las personas que me ayudaron a seguir desarrollando mi tesis.

Soncco Huaylla Sarita Dayshaluz

A Dios, que me ha dado fortaleza, sabiduría, quien me guía en el camino correcto. A mis padres quienes fueron mi principal apoyo mi aliento para que pudiera cumplir mis sueños. A mis amigas que siempre me motivaron para poder seguir adelante en el transcurso de la carrera.

Quispe Baez Soledad

AGRADECIMIENTO

A mis progenitores y hermanos por su comprensión, paciencia y apoyo en los días importantes que no pude acompañarlos

A mis docentes por sus enseñanzas.

Soncco Huaylla Sarita Dayshaluz

A Dios por guiarme en toda la trayectoria de mi carrera.

A mis padres: Washington y Matilde, quienes confiaron en mí, que siempre estuvieron conmigo en las malas y en las buenas dándome su apoyo incondicional.

A mis amigas que siempre me brindaron consejos y su apoyo.

A todos los docentes por su enseñanza, paciencia y motivación.

Quispe Baez Soledad

ÍNDICE GENERAL

	Páginas
Resumen	vi
Abstract	viii
I. INTRODUCCIÓN	8
II. MATERIALES Y MÉTODOS	16
2.1 Enfoque y diseño de la investigación	16
2.2 Población, muestra y muestreo	17
2.3 Variables de investigación	17
2.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos	18
2.5 Plan metodológico para la recolección de datos	18
2.6 Métodos de análisis estadístico	24
2.7 Aspectos éticos	24
III. RESULTADOS	25
IV. DISCUSIÓN	38
4.1 Discusión de resultados	38
4.2 Conclusiones	43
4.3 Recomendaciones	43
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	44

ANEXOS	55
---------------	-----------

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Prueba de solubilidad del Extracto acuoso de frutos de <i>Vaccinium corymbosum</i> L. (Arándano azul)	25
Tabla 2. Tamizaje fitoquímico del extracto acuoso de <i>Vaccinium corymbosum</i> L. (arándano azul)	26
Tabla 3. Resultados promedio de las mediciones de los halos de inhibición (mm) del extracto acuoso de <i>Vaccinium corymbosum</i> L. (arándano azul)	27
Tabla 4. Estadística descriptiva de la actividad antibacteriana del extracto acuoso de <i>Vaccinium corymbosum</i> L. (arándano azul) frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 y <i>Proteus mirabilis</i> ATCC.	29
Tabla 5. Pruebas de normalidad	32
Tabla 6. Prueba de Homogeneidad de varianza del extracto acuoso de <i>Vaccinium corymbosum</i> L. (arándano azul) frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 y <i>Proteus mirabilis</i> ATCC 29906.	32
Tabla 7. Prueba de ANOVA de los halos de inhibición del extracto acuoso de <i>Vaccinium corymbosum</i> L. (arándano azul) frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 y <i>Proteus mirabilis</i> ATCC 29906.	32
Tabla 8. Comparaciones múltiples de los halos de inhibición del extracto acuoso de <i>Vaccinium corymbosum</i> L. (arándano azul) frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 y <i>Proteus mirabilis</i> ATCC 29906.	34
Tabla 9. Prueba de subconjuntos de Tukey para de los halos de inhibición del extracto acuoso de <i>Vaccinium corymbosum</i> L. (arándano azul) frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922.	35
Tabla 10. Prueba de subconjuntos de Tukey para de los halos de inhibición del extracto acuoso de <i>Vaccinium corymbosum</i> L. (arándano azul) frente a <i>Proteus mirabilis</i> ATCC 29906.	35

RESUMEN

Objetivo: Evaluar la actividad antibacteriana del extracto acuoso de *Vaccinium corymbosum* L. (arándano azul) frente a *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Proteus mirabilis* ATCC 29906.

Método: Enfoque cuantitativo, diseño experimental, tipo explicativo y transversal. Se obtuvo el extracto acuoso de *Vaccinium corymbosum* L. (arándano azul) por disolución del material obtenido luego de la molienda con agua destilada, al cual se realizó el tamizaje fitoquímico para comprobar presencia de metabolitos secundarios. Se aplicó la técnica de difusión en disco para evaluar la actividad antibacteriana trabajando el extracto acuoso en concentraciones al 25%, 50%, 75% y 100% contra *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Proteus mirabilis* ATCC 29906 y comparándolo con el ciprofloxacino como control.

Resultados: En el extracto acuoso de *Vaccinium corymbosum* L. (arándano azul) se encontraron alcaloides, taninos, y antocianinas; en menor escala compuestos fenólicos, saponinas y flavonoides. Se evidenció que el extracto acuoso de *Vaccinium corymbosum* L. (arándano azul) en sus diferentes concentraciones del 25%, 50%, 75% y 100% presentó actividad antibacteriana en un grado de sensibilidad baja con un rango de medición de halos de inhibición de 8,22mm hasta 13,22mm frente a *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Proteus mirabilis* ATCC 29906; mientras que con Ciprofloxacino resultó sumamente sensible en el rango de 33,42mm.

Conclusiones: El extracto acuoso de *Vaccinium corymbosum* L. (arándano azul) presenta baja acción antibacteriana contra cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Proteus mirabilis* ATCC 29906.

Palabras claves: Extracto acuoso, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, antocianinas, taninos.

ABSTRACT

Objective: To evaluate the antibacterial activity of the aqueous extract of *Vaccinium corymbosum* L. (blueberry) against *Escherichia coli* ATCC 25922 and *Proteus mirabilis* ATCC 29906.

Methods: Quantitative approach, experimental design, explanatory and transversal type. The aqueous extract of *Vaccinium corymbosum* L. (blueberry) was obtained by dissolving the material obtained after grinding with distilled water, which was subjected to phytochemical screening to verify the presence of secondary metabolites. The "disk diffusion" technique was applied to evaluate the antibacterial activity working on the aqueous extract at concentrations of 25%, 50%, 75% and 100% against *Escherichia coli* ATCC 25922 and *Proteus mirabilis* ATCC 29906 and compared with ciprofloxacin as a control.

Results: In the aqueous extract of *Vaccinium corymbosum* L. (blueberry) alkaloids, tannins, and anthocyanins were found; on a smaller scale phenolic compound, saponins and flavonoids. It was evidenced that the aqueous extract of *Vaccinium corymbosum* L. (blueberry) in its different concentrations of 25%, 50%, 75% and 100% presented antibacterial activity in a low degree of sensitivity with a measurement range of inhibition halos of 8.22mm to 13.22mm against *Escherichia coli* ATCC 25922 and *Proteus mirabilis* ATCC 29906; while with Ciprofloxacin it was extremely sensitive in the range of 33.42mm.

Conclusions: The aqueous extract of *Vaccinium corymbosum* L. (blueberry) has low antibacterial activity against *Escherichia coli* ATCC 25922 and *Proteus mirabilis* ATCC 29906 strains.

Keywords: Aqueous extract, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, anthocyanins, tannins

I. INTRODUCCIÓN

Una infección del tracto urinario (ITU) es una infección que puede ocurrir a lo largo de todo el tracto urinario, que comprende los riñones, los uréteres, la vejiga y la uretra, afectando con mayor frecuencia a la vejiga¹. El principal mecanismo de defensa fisiológico del tracto urinario es la micción, donde la orina conduce fuera del tracto urinario a bacterias que rodean la región genital que pueden entrar en contacto con la región interna de la uretra y causar infecciones². Las bacterias que viajan desde el exterior del cuerpo a través de la uretra y hacia la vejiga, son la causa más común de las infecciones urinarias, siendo la *Escherichia coli* la bacteria más común y en orden de incidencia *Proteus mirabilis*, y *Klebsiella pneumoniae*^{3,4}.

La ITU se encuentra entre las complicaciones más comunes encontradas en la práctica clínica y en los hospitales⁴. Ocurre en ambos sexos y en todas las edades, produciendo una morbilidad considerable, especialmente entre individuos propensos a infecciones recurrentes⁵. Son mucho menos comunes en hombres que en mujeres, y en estos a menudo se asocian con prostatitis bacteriana crónica y tienden a ocurrir en la infancia o en mayor número en ancianos⁶. Un estudio realizado en dos instituciones prestadoras de salud, en Lima, Perú, durante el periodo 2016-2018, demostró que las enfermedades asociadas más frecuentes fueron diabetes (39,3 %) y enfermedad renal moderada o grave (12,8 %), y los agentes aislados más comunes fueron *Escherichia coli* (92,3%), *Klebsiella spp* (6,0 %) y *Proteus spp* (1,7 %)⁷. Otro estudio realizado en la Universidad Católica del Ecuador indicó que los principales agentes etiológicos implicados en la prevalencia de ITU en adultos mayores fueron *E. coli*, *K. pneumoniae*, y *P. mirabilis*, así mismo mostraron un elevado nivel de resistencia a los antibacterianos usados comúnmente⁸.

Para combatir el uso excesivo de antibióticos y, por lo tanto, las crecientes tasas de resistencia a los antimicrobianos, las preparaciones a base de hierbas son una alternativa potencial a los antibacterianos para el tratamiento de ITUs⁹. En los últimos años el fruto del arándano se ha considerado muy propio para la curación y prevención de las enfermedades del tracto urinario (vejiga, riñones, uretra y próstata) provocadas por bacterias uropatógenas, las primeras investigaciones acerca de este efecto se basaban en la hipótesis de la acidificación que producía el zumo en la orina¹⁰. Pero las investigaciones más recientes apuntan a otro mecanismo: las proantocianidinas (PACs) o taninos condensados, que actúan como antiadherentes impidiendo la adherencia bacteriana al epitelio urinario¹¹.

La actividad antibacteriana es la capacidad expresada por un compuesto inhibiendo el crecimiento bacteriano en una población o para eliminarla, impidiendo que cause enfermedad y que puede expresarse de manera cuantitativa con métodos *in vitro*¹². Existe mucha resistencia antimicrobiana en el tratamiento de las ITUs, el trabajo se enfoca en el estudio de las propiedades antibacterianas del “extracto acuoso de *Vaccinium corymbosum* L. (arándano azul)” frente a bacterias uropatógenas. El arándano azul conocido también como blueberry (*Vaccinium corymbosum*) pertenece al género de *Vaccinium*, e incluye los arbustos silvestres que producen bayas comestibles redondas y con vértices muy brillantes. Es muy independiente del arándano rojo (*Vaccinium macrocarpon*)¹³. El efecto antibacteriano del jugo de arándano y los ácidos orgánicos que contiene sobre la infección por *Escherichia coli* uropatógena se estudió en un modelo de ratón experimental con infección del tracto urinario (ITU). Se encontraron recuentos bacterianos reducidos en la vejiga ($P < 0.01$) de ratones que bebieron jugo de arándano fresco. El jugo de arándano disponible comercialmente también redujo significativamente ($P < 0,01$) las poblaciones bacterianas en la vejiga por lo tanto tuvieron efecto antibacteriano¹⁴. Los recursos vegetales y los productos a base de ellos, constituyen una ayuda valiosa para combatir enfermedades desde el punto de vista preventivo, como de apoyo terapéutico una vez adquirida la infección. Las especies vegetales han sido el recurso principal de medicina para el ser humano desde el comienzo de nuestra

especie y muchos de los primeros medicamentos para tratar enfermedades infecciosas fueron productos vegetales¹⁵.

Las especies vegetales medicinales han jugado un papel esencial en el desarrollo de la cultura humana y son recursos de los tratamientos tradicionales y muchas de los fármacos modernos se producen indirectamente a partir de recursos vegetales¹⁶. La OMS ha confirmado que las hierbas medicinales satisfacen las necesidades de salud de alrededor del 80 por ciento de la población mundial; especialmente para millones de personas en las vastas áreas rurales de los países en desarrollo¹⁷. Los beneficios para la salud de los extractos de plantas dependen principalmente de sus metabolitos secundarios, es decir, sustancias producidas por las plantas que las hacen competitivas en su propio entorno¹⁸.

Los usos tradicionales del *Vaccinium corymbosum* L. (arándano azul) que se conocen son:

1. Mejorar la hiperglucemia¹⁹.
2. Efecto antioxidante y antiinflamatorio²⁰.
3. Reducción del riesgo cardiovascular^{21,22}.
4. Afecciones hepáticas²³.
5. Afecciones oculares, mejora la agudeza visual y regenera la púrpura retiniana²⁴.
6. Diurético²⁵.
7. Gastroprotector²⁶.

Los arándanos tienen altas concentraciones de antocianinas y esto ayuda a explicar sus beneficios para la salud, tiene fuerte capacidad antioxidante²⁷, y esto se explica principalmente por los 27 pigmentos de antocianina diferentes presentes en la fruta misma²⁸.

Antecedentes nacionales:

Sachún, J. (2019), evaluó la actividad antimicrobiana del extracto del fruto de *Vaccinium corymbosum* "arándano" a diferentes concentraciones (100%, 75%, 50% y 25%) sobre las cepas de *S. aureus* ATCC 25923 en comparación con la *mupirocina* 200 ug in vitro. Los resultados mostraron: (a) Al 100% el halo de inhibición del extracto acuoso del *Vaccinium corymbosum* (arándano azul) fue mayor (29.3 mm ± 1.9 mm). (b) Al 75% el efecto antibacteriano del extracto acuoso del *Vaccinium corymbosum* (arándano azul) tuvo un halo de 21.4 mm ± 2.3mm. El "extracto acuoso del *Vaccinium corymbosum* (arándano azul)" evidenció actividad antimicrobiana en todas las concentraciones, por encima del standar Mupirocina frente a cepas de *Staphylococcus aureus*²⁹.

Acevedo B. (2020), evaluó el efecto antibacteriano in vitro del *Vaccinium corymbosum* L. sobre *Escherichia coli* uropatógena. Los resultados evidenciaron "sensibilidad limite" de *E. coli* uropatógena frente al extracto etanólico de *Vaccinium corymbosum* L., para las concentraciones de 50% y 75%, "sensibilidad media" para la concentración de 100% y "sensible" para ciprofloxacino. La concentración bactericida mínima del extracto etanólico de *Vaccinium corymbosum* L. sobre *Escherichia coli* uropatógena fue a la concentración de 75%³⁰.

Reyes, G. (2019). Valoró la actividad antimicrobiana in vitro del extracto alcohólico de *Vaccinium corymbosum* L. sobre *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. Los resultados mostraron actividad antimicrobiana baja en todas las concentraciones del extracto alcohólico de *Vaccinium corymbosum* L. para *Escherichia coli*, y para *Staphylococcus aureus*, sólo la concentración del 25% no mostró actividad antimicrobiana (halo de inhibición 7,5 mm). Se demostró que las proantocianidinas son el metabolito secundario del *Vaccinium corymbosum* L. que inhiben la cohesión y la formación de biopelículas en el *urotelio*. Por lo tanto, el extracto hidroalcohólico de *Vaccinium corymbosum* L tiene efecto antimicrobiano sobre *E. coli*, y *S. aureus*³¹.

Antecedentes Internacionales:

Varela S., et.al. (2020). Estudiaron la eficacia antimicrobiana de las cápsulas de extracto líquido de *Vaccinium floribundum kunth* (Mortíño) *in vitro*; en infecciones agudas del tracto urinario. Los resultados mostraron que la concentración inhibitoria mínima (CIM) fue de 150 µl para 150 mg de pellets contra *E. coli* (65,15%) y 90 µl para *S. saprophyticus* (50,48%); para 200 mg de pellets contra *E. coli* fue de 70 µl (90,31%) y para *S. saprophyticus* de 70 µl (91,17%); en el sedimento de 250 mg contra *E. coli* fue de 50 µl, (87,51%) y para *S. saprophyticus* de 50 µl (86,56%). El extracto líquido de *Vaccinium floribundum kunth* (Mortíño) presenta eficacia *in vitro* en infecciones agudas del tracto urinario³².

González D., et.al. (2020). Evaluaron la eficacia de los polifenoles del arándano y su prevención contra infecciones del tracto urinario: Los resultados de los ensayos clínicos existentes respaldan evidencia sustancial sobre el uso de productos de

arándano como alternativas terapéuticas totales o parciales a los antibióticos en las infecciones urinarias, aunque también se ha visto que la eficacia del arándano depende de cada caso o de cada individuo. Esta variabilidad entre individuos y casos se ha atribuido a diferentes dosis y productos elaborados a base de arándano, así como a la falta de protocolos sistemáticos para la selección de sujetos y ensayos clínicos³³.

Lalaleo M. (2016). Evaluó el efecto inhibitorio del extracto alcohólico de *Vaccinium floribundum* Kunth (mortíño) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 35668. El extracto de mortíño se obtuvo por el método de percolación, usando una solución alcohólica como solvente, en concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100%. Los resultados mostraron que el extracto alcohólico de “mortíño” a una concentración del 25 % tenía un valor significativo en comparación con las otras tres concentraciones con una inhibición media (halo 13,11mm). El extracto alcohólico de “mortíño” al 25% provoca

una mayor inhibición de *S. mutans* que otras concentraciones, pero menor que la clorhexidina. El extracto alcohólico de *Vaccinium floribundum* Kunth (mortiño) tiene efecto inhibitorio sobre *Streptococcus mutans*³⁴.

El estudio se justifica teóricamente porque contribuirá al conocimiento científico de los beneficios para la salud de los componentes principales como las antocianinas³⁵, taninos, compuestos fenólicos, flavonoides, alcaloides³⁶, y antraquinonas³⁷.

El arándano contiene compuestos que han sido implicados en el efecto anti adherencia³⁹. Con este estudio pretendemos demostrar la utilidad del arándano en la inhibición de las bacterias responsables de ITU recurrente, y que serán de utilidad para controlar estas bacterias uropatógenas.

En cuanto a la justificación social, la aceptación del consumo de este fruto y tener evidencia científica de sus propiedades en la prevención de infecciones del tracto urinario, amén de otras utilidades ayudaría en el tratamiento costoso de estas infecciones recurrentes, cuyos beneficiarios serán pacientes de todas las edades quienes podrán acceder a productos de menor costo.

El objetivo general del estudio fue: "Evaluar la actividad antibacteriana del extracto acuoso de *Vaccinium corymbosum* L. (arándano azul) frente a *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Proteus mirabilis* ATCC 29906".

La hipótesis general del estudio se describe como: El extracto acuoso de *Vaccinium corymbosum* L. (arándano azul) presenta actividad antibacteriana frente a *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Proteus mirabilis* ATCC 29906 .

II. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Enfoque y diseño de la investigación

Cuantitativo porque se basó en mediciones numéricas⁴⁰, puesto que se realizó mediciones de los halos de inhibición para comprobar la actividad antibacteriana del extracto acuoso de *Vaccinium corymbosum* L. (arándano azul) frente a *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Proteus mirabilis* ATCC 29906.

Es experimental porque hay manipulación de las variables para encontrar la causa-efecto.

Analítico: Porque tuvo como finalidad establecer una relación causa – efecto entre las variables⁴¹.

Explicativo: Porque buscó la interpretación del porque ocurre un fenómeno⁴². Se buscó relacionar las diferentes concentraciones del extracto acuoso de *Vaccinium corymbosum* L. (arándano azul) con la actividad antibacteriana frente a *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Proteus mirabilis* ATCC 29906.

Deductivo: Es un tipo de razonamiento utilizado para aplicar leyes o teorías en casos individuales. En el estudio, se utilizará para deducir las variables: extracto acuoso de *Vaccinium corymbosum* L. (arándano azul) y susceptibilidad antibacteriana en sus dimensiones y estas en sus indicadores medibles como el halo de inhibición⁴³.

Prospectivo: Porque se registraron los hechos según fueron ocurriendo (hacia el futuro). El investigador pudo controlar la calidad de información⁴⁴.

Transversal: Porque se estudió al objeto en un momento dado, es decir se tomaron los datos de actividad antibacteriana una sola vez.

2.2 Población, muestra y muestreo

La población estuvo constituida por el recurso vegetal *Vaccinium corymbosum* L. (arándano azul), procedente del fundo Don Ricardo, en la ciudad de Ica.

La **muestra** estuvo constituida por 1500 gr del fruto de *Vaccinium corymbosum* L. (arándano azul)

El **muestreo** fue intencionado o por conveniencia porque los elementos seleccionados para la muestra fueron elegidos por el criterio del investigador.

- Criterios de inclusión: Frutos en buenas condiciones
- Criterios de exclusión: Frutos dañados, aplastados, rotos, signos de contaminación microbiana o por insectos

2.3 Variables de investigación

Variable independiente: Extracto acuoso de *Vaccinium corymbosum* L. (arándano azul)

Definición conceptual: Producto obtenido de someter los frutos frescos de *Vaccinium corymbosum* L. (arándano azul) a trozado y molienda, seguido de la disolución del material obtenido con agua destilada y posterior filtrado.

Definición operacional: Concentración del extracto acuoso del *Vaccinium corymbosum* L. (arándano azul)

Variable dependiente: Actividad antibacteriana frente a *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Proteus mirabilis* ATCC 29906.

Definición conceptual: Inhibición del crecimiento bacteriano de las bacterias uropatógenas.

Definición operacional: Sensibilidad bacteriana frente al extracto acuoso del *Vaccinium corymbosum* L. (arándano azul) obtenida por medición del diámetro del halo de inhibición.

2.4 Técnicas e instrumento para la recolección de datos

Se utilizó una ficha ad hoc., de recolección de datos para la actividad farmacológica del extracto acuoso de *Vaccinium corymbosum* L. (arándano azul) y su actividad antibacteriana frente a “*Escherichia coli* ATCC 25922” y *Proteus mirabilis* ATCC 29906.

2.5. Plan metodológico para la recolección de datos

2.5.1 Recolección de muestra vegetal.

Los frutos frescos de *Vaccinium corymbosum* L. (arándano azul), proceden del fundo Don Ricardo, distrito de La Tinguña, 200 msnm de la ciudad de Ica, en una cantidad aproximada de 5 kg., considerando los criterios de inclusión y exclusión, posteriormente fueron lavados con agua clorada, asimismo enjuagados con agua estéril, y finalmente se dejaron orear sobre papel Kraft.

2.5.2 Certificación de la especie vegetal

Se llevo el recurso vegetal al especialista, José Ricardo Campos De La Cruz, CBP 3796 inscrito en el Registro de Profesionales que Realizan Certificación de Identificación Taxonómica de Especímenes y Productos de Flora- R.D. N°0311-2013-MINAGRI-DGFFS-DGEFFS, en la ciudad de Lima.

2.5.3 Obtención del extracto acuoso

Se trabajó con 1500 gramos de arándanos, luego de lavados y enjuagados, la muestra fue trozada con un cuchillo de acero para facilitar su posterior secado y distribuida sobre recipientes de vidrio pyrex⁴⁵, fue secada por 72 horas empleando una estufa con aire recirculante a una temperatura de 40 °C, se obtuvo la melcocha (con un peso de 228 gr), el cual se procedió a moler para aumentar la superficie de contacto⁴⁶; a esta molienda en un frasco ámbar se le agregó 550 ml de agua destilada, luego se filtró con papel Whatman N°1.

Para la preparación de las concentraciones a un volumen total de 10 ml en viales estériles:

- Concentración al 25%: 2.5 gr del extracto acuoso desecado + 7.5 ml de agua destilada.
- Concentración al 50%: 5 gr del extracto acuoso desecado + 7, 5 ml de agua destilada.
- Concentración al 75%: 7.5 gr del extracto acuoso desecado + 2.50 ml de agua destilada.
- Concentración al 100%: 10 gr del extracto acuoso desecado + 10 ml de agua destilada. Se dejaron reposar en frascos de color ámbar⁴⁷.

2.5.4 Marcha fitoquímica

Una vez obtenido el extracto, se realizó la marcha fitoquímica, la que permitió identificar todos los compuestos que presenta el extracto acuoso de *Vaccinium corymbosum* L. (arándano azul) según los métodos cualitativos de análisis.

Antraquinonas: Se debe agitar 6 ml del extracto acuoso de *Vaccinium corymbosum* L. (arándano azul), en 10 mL de tolueno durante 10 minutos. Posteriormente la mezcla se filtró y se adicionó 10 mL de hidróxido de amonio (NH₄OH) al 10 %. La coloración rosa indica presencia de antraquinonas⁴⁸.

Antocianinas: Agregar 2 ml del extracto acuoso de *Vaccinium corymbosum* L. (arándano azul) en el recipiente y seguidamente agregamos 1 ml de NaOH diluido. Analizar la coloración formada, mayormente azul. En otro tubo de ensayo se agregó 2 ml del filtrado y seguidamente se añadió 6 gotas de algún ácido mineral diluido (HCl o H₂SO₄ al 10%). Posteriormente se analiza la coloración formada, mayormente de rojo a anaranjado. Las antocianinas se reconocen por producir diferentes colores a diferentes pH⁴⁸.

Alcaloides: Reacción de Wagner:

Reactivo A: 1,36 gr HgCl sobre 60 ml de agua

Reactivo B: 5 gr KI sobre 10 ml de agua.

En un recipiente de ensayo se agregó 3 gts., del reactivo, sobre 3 gotas del extracto. Si es positivo da un precipitado pardo oscuro rojizo a marrón⁴⁹.

Alcaloides, Reacción de Dragendorff: En un tubo de ensaye colocar, 3 gotas del extracto + 3 gotas del reactivo. La formación de precipitado naranja marrón, indica presencia de alcaloides⁴⁹

Compuestos fenólicos: A 2 ml del extracto acuoso de *Vaccinium corymbosum* L. (arándano azul), se añade 3 gotas de FeCl₃ al 4%. Cuando la disolución desarrolla una coloración negro-azulada, esta indica la presencia de fenoles y si muestra una coloración verde indica la presencia de compuestos fenólicos⁴⁸.

Flavonoides: A 2 ml del extracto acuoso de *Vaccinium corymbosum* L. (arándano azul), se le añade 3 gotas de NaOH al 2 %. Cuando la disolución desarrolla una coloración amarilla intensa que desaparece después de añadir HCl diluido, muestra la presencia de flavonoides⁴⁸.

Taninos: Prueba de gelatina: "A 1ml del extracto adicionar 2ml de H₂O destilada + 3gotas de NaCl al 2% calentar a ebullición por un minuto, enfriando y filtrando"; se

agrega 2 gotas del reactivo de gelatina. Da un precipitado de color blanco en presencia de taninos⁵⁰.

Taninos, prueba gelatina – cloruro de sodio: para la preparación del reactivo se remoja 10 g de gelatina sin sabor durante una hora en solución saturada de cloruro de sodio (sal), calentar hasta disolución completa y aforar a 1 lt.⁵¹

En un tubo de ensayo a 1.0 cm³ del extracto, añadimos 1.0 ml de la solución de gelatina-sal. La formación de un precipitado se consideró prueba positiva⁵²

2.5.5. Actividad antibacteriana método Kirby Bauer o antibiograma

Se determinó la actividad antimicrobiana empleando el método de Kirby Bauer, utilizando caldo estéril de Mueller-Hinton y como muestra biológica, las bacterias tipificadas *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Proteus mirabilis* ATCC 29906, comparadas con el agente antimicrobiano Ciprofloxacino.

Este procedimiento se llevó a cabo en el “laboratorio biológico y análisis clínico Santa Rosa E.I.R.L.” de Lima, empleando la técnica de “difusión en agar (Kirby Bauer),” empleado mayormente para establecer la sensibilidad de un agente microbiano frente a drogas específicas.

a) Preparación de Medio de Cultivo

Agar Mueller Hinton: El medio de cultivo fue preparado partiendo de la base deshidratada y siguiendo las indicaciones proporcionadas por el fabricante.

- Se pesó 15.2 gr. de Agar Mueller Hinton deshidratado y se adicionó 400 ml de agua destilada, posteriormente se procedió a calentar con agitación constante hasta lograr la disolución total del medio de cultivo, por último, se esterilizó empleando una autoclave sometiendo al medio de cultivo a 15 libras de presión (121°C) durante 15 minutos.

- Una vez finalizado el proceso en la autoclave se dejó enfriar hasta que el medio de cultivo alcanzó una temperatura entre 45°C – 50°C y se distribuyó en placas petri estériles de 90 x 15 mm.

b) Activación de la cepa: Kwik-stik microbiologics - *Proteus mirabilis* ATCC 29906 y *Escherichia coli* ATCC 25922

Para preparar el inóculo se empleó el producto Kwik-stik microbiologics® que contiene a las cepas de *Proteus mirabilis* ATCC 29906 y *Escherichia coli* ATCC 25922 liofilizada en un pelet.

- El Kwik-stik presenta en la parte superior una ampolla que contiene líquido hidratante, el cual fue liberado al presionar la mencionada ampolla. Luego de realizar esta operación el Kwik-stik se mantuvo en posición vertical para facilitar el flujo del líquido por el mango hasta la parte inferior de la unidad, que contiene el gránulo.
- Para terminar, se presiona la parte inferior de la unidad para lograr una suspensión homogénea.
- De inmediato se procedió a saturar el hisopo, que contiene el producto, con el material hidratado y se transfirió a una placa con agar TSA; la cual fue incubada a 37°C. durante 24 horas.

c) Método de preparación del inóculo

Se realizó la suspensión directa, en solución salina (cloruro de sodio 0.9%), de colonias obtenidas de cada una de las placas con agar TSA anteriormente incubada durante 24 horas

La turbidez resultante fue inmediatamente ajustada comparándola de manera visual con la turbidez del estándar 0.5 de Mc. Farland.

d) Inoculación de placas

- Dentro de los 15 minutos posteriores al ajuste de la turbidez del inóculo, se procedió a sumergir un hisopo estéril en la suspensión obtenida; el hisopo se rotó varias veces presionando firmemente sobre la pared interior del tubo y por encima del nivel del líquido, esto con la finalidad de remover el exceso de inóculo.
- Posteriormente se inoculó sobre la superficie seca del agar Müller Hinton; para esto se realizaron estrías en tres direcciones diferentes con la finalidad de asegurar una distribución uniforme del inóculo.
- Previamente todas las placas fueron marcadas para posteriormente colocar los discos.

e) Preparación de discos de sensibilidad

Para la preparación de los discos se emplearon discos de papel filtro Whatman N° 1 de 6 mm de diámetro previamente esterilizados.

Cada uno de los discos fue embebido con 10 uL de muestra de la siguiente manera:

- Discos embebidos con extracto de arándanos al 100%
- Discos embebidos con extracto de arándanos al 75%
- Discos embebidos con extracto de arándanos al 50%
- Discos embebidos con extracto de arándanos al 25%
- Discos embebidos con agua destilada
- Discos de ciprofloxacino 5 ug

2.6. Procesamiento del análisis estadístico

Después de obtener de datos de los análisis efectuados, se realizó las evaluaciones de estadística descriptiva empleando las medidas de tendencia central, así como el uso de la estadística inferencial, aplicando ANOVA, haciendo uso del paquete estadístico SPSS versión 26.

2.7. Aspectos éticos

En la presente investigación se tuvo las siguientes responsabilidades:

1. Los laboratorios no deben realizar prácticas ilegales y deben proteger la reputación de la profesión.
2. Deben ser gestionados por un experto autorizado y debidamente calificado.
3. Todo trabajador de laboratorio debe ser consciente de sus responsabilidades profesionales, prestar sus servicios de forma eficiente y eficaz y basar sus investigaciones en los conocimientos científicos y prácticos adquiridos durante su formación profesional. También es su responsabilidad analizar, leer y aplicar los principios éticos y el respeto a los derechos humanos.
4. La integridad personal y profesional como señal de identidad de todos los expertos en la materia.
5. Cada laboratorio establece sus propios protocolos de documentación, teniendo en cuenta los requisitos legales y las propuestas de las asociaciones profesionales⁵³.

III. RESULTADOS

3.1 Resultados sobre “prueba de solubilidad”

Tabla N° 1. “Prueba de solubilidad del Extracto acuoso de frutos de *Vaccinium corymbosum* L. (Arándano azul)”

TUBO	SOLVENTE	RESULTADOS
N° 1	Éter de petróleo	-
N° 2	Diclorometano	-
N° 3	Cloroformo	-
N° 4	Butanol	-
N° 5	Etanol 96	+
N° 6	Metanol	++
N° 7	Agua destilada	+++

Leyenda:

- Insoluble (-)
- Poco soluble (+)
- Medianamente soluble (++)
- Muy soluble (+++)

Los resultados del ensayo de solubilidad mostrados en la tabla 1 muestran que el extracto acuoso de frutos de *Vaccinium corymbosum* L. (Arándano azul) fue poco soluble con el etanol de 96° (+), medianamente soluble en disolventes orgánicos polares como el metanol (++) , así como muy soluble en agua destilada (+++).

3.2 Resultados sobre Tamizaje fitoquímico

Tabla 2. Tamizaje fitoquímico del extracto acuoso de *Vaccinium corymbosum* L. (arándano azul)

TUBO	ENSAYOS	METABOLITO	RESULTADO
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 α , β -insaturadas	-
N° 8	Gelatina	Taninos	+++
N° 9	Gelatina-sal	Taninos	+++
N° 10	Hidróxido de sodio al 10%	Antocianinas	+++
N° 13	Espuma	Saponinas	+
N° 14	Shinoda	Flavonoides	+

Leyenda:

Ausencia : (-)

Escaso : (+)

Leve : (++)

Moderado: (+++)

Abundante: (++++)

Como se observa en la tabla 2, los resultados del tamizaje fitoquímico evidencian presencia de metabolitos secundarios como alcaloides, los cuales fueron identificados mediante las pruebas cualitativas, de Dragendorff y Wagner (+++) presencia moderada, así mismo; las pruebas de Gelatina, Gelatina-sal, NaOH 10% también evidenciaron moderada presencia para taninos, y antocianinas respectivamente (+++), en menor proporción la prueba de cloruro férrico mostró leve presencia de compuestos fenólicos (++) y en menor escala la presencia de

saponinas y flavonoides (+) escasa presencia. Cabe resaltar que no se logró identificar antraquinonas, terpenos y esteroides y lactonas α , β -insaturadas.

3.3. Resultados sobre la actividad bacteriana del extracto acuoso de *Vaccinium corymbosum* L. (arándano azul) frente a *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Proteus mirabilis* ATCC 29906.

Para la determinación de la actividad bacteriana del extracto acuoso de *Vaccinium corymbosum* L. (arándano azul) frente a cepas de interés clínicos, se usaron concentraciones del extracto al 25%, 50%, 75% y 100%, como control positivo se utilizó Ciprofloxacino de 500mg

Tabla 3. “Resultados promedio de las mediciones de los halos de inhibición (mm) del extracto acuoso de *Vaccinium corymbosum* L. (arándano azul)”

Microorganismo	“Diámetros de inhibición en mm”					
	100%	75%	50%	25%	Ciprofloxacino 500mg	H₂O
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 29906	13.25	12.34	10.25	8.25	33.42	6
	13.21	12.30	10.24	8.24	33.45	6
	13.20	12.31	10.22	8.21	33.44	6
	13.24	12.30	10.24	8.21	33.40	6
	13.21	12.31	10.22	8.22	33.42	6
<i>Promedio</i>	13.22	12.31	10.23	8.23	33.43	
<i>Desviación estándar</i>	0.02	0.02	0.01	0.02	0.02	
Microorganismo	“Diámetros de inhibición en mm”					
	100%	75%	50%	25%	Ciprofloxacino 500mg	H₂O
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	11.42	10.06	9.27	8.30	35.52	6
	11.45	10.08	9.29	8.35	35.55	6
	11.43	10.11	9.25	8.32	35.54	6
	11.45	10.05	9.25	8.30	35.50	6
	11.42	10.08	9.28	8.35	35.52	6
<i>Promedio</i>	11.43	10.08	9.27	8.32	35.53	
<i>Desviación estándar</i>	0.02	0.02	0.02	0.03	0.02	

Leyenda

Escala interpretativa Duraffourd y Lapraz (1983)⁵⁴

- (-) Nula: Diámetro (< 8 mm)
- (+) Sensible bajo: Diámetro (8 - 14 mm)
- (++) Medio (muy sensible): Diámetro (14 - 20 mm)
- (+++) Sumamente sensible: Diámetro (> 20 mm)

En la Tabla 3 se observan los resultados promedio de los halos de inhibición (mm) de los dos días en que se realizó el ensayo, el halo representa el efecto antibacteriano del extracto acuoso de *Vaccinium corymbosum* L. (arándano azul) frente a cepas de *E. coli* ATCC 25292 y *P. mirabilis* ATCC 29906. Para la medición se utilizó un vernier.

Según la escala interpretativa de Duraffourd y Lapraz, la cepa de *E. coli* ATCC 25922, tanto para las concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% presenta baja sensibilidad, con promedios de 8.32; 9.27; 10.08 y 11.32 mm respectivamente, para el control ciprofloxacino, la cepa es “muy sensible”, con valores de 35,53 mm. Con respecto a la cepa de *P. mirabilis* ATCC 29906 tanto para las concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% presenta baja sensibilidad, con promedios de 8.23; 10.23; 12.31; y 13.22 respectivamente, para ciprofloxacino la cepa es “muy sensible”, con valores de 33,42 mm.

3.4 Resultados sobre Contrastación de hipótesis:

3.4.1 Contrastación de hipótesis general

H0: “El extracto acuoso de *Vaccinium corymbosum* L. (arándano azul) no presenta actividad antibacteriana frente a *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Proteus mirabilis* ATCC 29906.”

H1: “El extracto acuoso de *Vaccinium corymbosum* L. (arándano azul) presenta actividad antibacteriana frente a *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Proteus mirabilis* ATCC 29906.”

Tabla 4. “Estadística descriptiva de la actividad antibacteriana del extracto acuoso de *Vaccinium corymbosum* L. (arándano azul) frente a *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Proteus mirabilis* ATCC.”

		<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 29906							
		Recuento	Media	Desviación estándar	Error estándar de la media	95,0% CL inferior para media	95,0% CL superior para media	Mínimo	Máximo
Extracto acuoso de <i>Vaccinium corymbosum</i> L.	Concentración al 25%	5	8,23	,02	,01	8,20	8,25	8,21	8,25
	Concentración al 50%	5	10,23	,01	,01	10,22	10,25	10,22	10,25
	Concentración al 75%	5	12,31	,02	,01	12,29	12,33	12,30	12,34
	Concentración al 100%	5	13,22	,02	,01	13,20	13,25	13,20	13,25
	Ciprofloxacino 5ug	5	33,43	,02	,01	33,40	33,45	33,40	33,45
	Total	25	15,48	9,32	1,86	11,64	19,33	8,21	33,45
		<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922							
		Recuento	Media	Desviación estándar	Error estándar de la media	95,0% CL inferior para media	95,0% CL superior para media	Mínimo	Máximo
Extracto acuoso de <i>Vaccinium corymbosum</i> L.	Concentración al 25%	5	8,32	,03	,01	8,29	8,36	8,30	8,35
	Concentración al 50%	5	9,27	,02	,01	9,25	9,29	9,25	9,29
	Concentración al 75%	5	10,08	,02	,01	10,05	10,10	10,05	10,11
	Concentración al 100%	5	11,43	,02	,01	11,42	11,45	11,42	11,45
	Ciprofloxacino 5ug	5	35,53	,02	,01	35,50	35,55	35,50	35,55
	Total	25	14,93	10,56	2,11	10,56	19,29	8,30	35,55

Leyenda:

Escala interpretativa Duraffourd y Lapraz (1983)⁵⁴

- (-) Nula: Diámetro (< 8 mm)
- (+) Sensible bajo: Diámetro (8 - 14 mm)
- (++) Medio (muy sensible): Diámetro (14 - 20 mm)
- (+++) Sumamente sensible: Diámetro (> 20 mm)

Como observamos en la tabla 4, considerando la escala interpretativa de Duraffourd y Lapraz, las concentraciones del extracto acuoso del *Vaccinium corymbosum* L. (arándano azul) al 25%, frente a *E. coli* obtuvo baja sensibilidad con un promedio de $8,32 \pm 0,03\text{mm}$, al 50% una media de $9,27 \pm 0,02\text{mm}$, al 75% una media de $10,08 \pm 0,02\text{mm}$ y al 100% una media de $11,43 \pm 0,02\text{mm}$.

Frente a la cepa de *P. mirabilis*, las concentraciones del extracto acuoso del *Vaccinium corymbosum* L. (arándano azul) obtuvieron sensibilidad baja, al 25% ($8,23 \pm 0,02\text{mm}$), al 50% ($10,23 \pm 0,01\text{mm}$), al 75% ($12,31 \pm 0,02\text{mm}$), al 100% ($13,22 \pm 0,02\text{mm}$). "Por lo tanto, se rechaza la hipótesis nula (H0) y se acepta la hipótesis alterna (H1)."

3.4.2 Resultados sobre Contrastación de hipótesis específica.

- **Hipótesis específica 1.**

H0: El extracto acuoso de *Vaccinium corymbosum* L. (arándano azul) no presenta metabolitos secundarios responsables de la actividad antibacteriana frente a *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Proteus mirabilis* ATCC 29906.

H1: El extracto acuoso de *Vaccinium corymbosum* L. (arándano azul) presenta metabolitos secundarios responsables de la actividad antibacteriana frente a *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Proteus mirabilis* ATCC 29906.

Para contrastar esta hipótesis, se realizó la prueba de la Marcha Fitoquímica donde se identificó los metabolitos secundarios con actividad antibacteriana, en tabla N° 2, se evidencia presencia de metabolitos secundarios como alcaloides, los cuales fueron identificados mediante las pruebas de Dragendorff y Wagner (+++) presencia moderada, así mismo; las pruebas de Gelatina, Gelatina-sal, e NaOH 10% también evidenciaron moderada presencia para taninos, y antocianinas respectivamente (+++), en menor proporción la prueba de cloruro férrico mostró leve presencia de compuestos fenólicos (++) y en menor escala la presencia de saponinas y flavonoides (+) escasa presencia. Cabe resaltar que no se logró identificar antraquinonas, terpenos y esteroides y lactonas α , β -insaturadas.

“Por lo tanto, se rechaza la hipótesis nula (H0) y se acepta la hipótesis alterna (H1).”

- **Hipótesis específica 2.**

H0: “El extracto acuoso de *Vaccinium corymbosum* L. (arándano azul) en sus distintas concentraciones del 25%, 50%, 75% y 100% no presenta actividad antibacteriana frente a *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Proteus mirabilis* ATCC 29906.”

H1: “El extracto acuoso de *Vaccinium corymbosum* L. (arándano azul) en sus distintas concentraciones del 25%, 50%, 75% y 100% presenta actividad antibacteriana frente a *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Proteus mirabilis* ATCC 29906.”

Para poder elegir la prueba estadística a realizar debemos verificar el cumplimiento de los supuestos: prueba de normalidad y prueba de homogeneidad de varianzas.

Tabla 5. Pruebas de normalidad

	Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 29906	,837	20	,070
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	,869	20	,110

La prueba de normalidad nos indica que los halos de inhibición obtenidos presentan una distribución normal, utilizamos la prueba de Shapiro-Wilk dado que la muestra fue menor a 30 unidades, en la Tabla 5 se observa que el p-valor(sig) es mayor a 0.05 para todos los grupos de estudio, por lo tanto, los resultados presentan distribución normal.

Tabla 6. “Prueba de Homogeneidad de varianza del extracto acuoso de *Vaccinium corymbosum* L. (arándano azul) frente a *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Proteus mirabilis* ATCC 29906.”

		Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 29906	Se basa en la media	1,084	3	16	,384
	Se basa en la mediana	,254	3	16	,858
	Se basa en la mediana y con gl ajustado	,254	3	12,738	,857
	Se basa en la media recortada	1,049	3	16	,398
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Se basa en la media	,687	3	16	,573
	Se basa en la mediana	,440	3	16	,727
	Se basa en la mediana y con gl ajustado	,440	3	12,960	,728
	Se basa en la media recortada	,691	3	16	,571

La prueba de homogeneidad de varianza nos ayuda a determinar si las varianzas de cada tratamiento son estadísticamente iguales o diferentes, para ello se utiliza la prueba de Levene, en la Tabla 6 observamos que p-valor (sig) es mayor a 0.05, por lo tanto, se concluye que las varianzas de los tratamientos son homogéneas. Al cumplir con los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianza aplicaremos pruebas paramétricas, en este caso la prueba de ANOVA, que nos permitirá determinar si existe diferencia entre los grupos de estudio y la prueba de Tukey con

la que seleccionaremos al mejor de los tratamientos si resulta significativa la prueba de ANOVA.

Tabla 7. Prueba de ANOVA de los halos de inhibición del extracto acuoso de *Vaccinium corymbosum* L. (arándano azul) frente a *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Proteus mirabilis* ATCC 29906.

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 29906	Entre grupos	74,702	3	24,901	79682,405	,000
	Dentro de grupos	,005	16	,000		
	Total	74,707	19			
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Entre grupos	26,027	3	8,676	20293,688	,000
	Dentro de grupos	,007	16	,000		
	Total	26,033	19			

En la tabla 7 se puede observar el resultado $p < 0.05$ (sig) para ambas cepas, indicándonos que existe diferencias significativas entre los tratamientos aplicados, para determinar el mejor de los tratamientos se debe aplicar pruebas POST HOC, en este caso aplicaremos la prueba de Tukey.

Tabla 8. “Comparaciones múltiples de los halos de inhibición del extracto acuoso de *Vaccinium corymbosum* L. (arándano azul) frente a *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Proteus mirabilis* ATCC 29906.”

Variable dependiente	(I) El extracto acuoso de <i>Vaccinium corymbosum</i> L.	HSD Tukey			Intervalo de confianza al 95%		
		(J) El extracto acuoso de <i>Vaccinium corymbosum</i> L.	Diferencia de medias (I-J)	Desv. Error	Sig.	Límite inferior	Límite superior
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 29906	<i>Vaccinium corymbosum</i> L. al 100%	<i>Vaccinium corymbosum</i> L. al 75%	,91000*	,01118	,000	,8780	,9420
		<i>Vaccinium corymbosum</i> L. al 50%	2,98800*	,01118	,000	2,9560	3,0200
		<i>Vaccinium corymbosum</i> L. al 25%	4,99600*	,01118	,000	4,9640	5,0280
	<i>Vaccinium corymbosum</i> L. al 75%	<i>Vaccinium corymbosum</i> L. al 100%	-,91000*	,01118	,000	-,9420	-,8780
		<i>Vaccinium corymbosum</i> L. al 50%	2,07800*	,01118	,000	2,0460	2,1100
		<i>Vaccinium corymbosum</i> L. al 25%	4,08600*	,01118	,000	4,0540	4,1180
	<i>Vaccinium corymbosum</i> L. al 50%	<i>Vaccinium corymbosum</i> L. al 100%	-2,98800*	,01118	,000	-3,0200	-2,9560
		<i>Vaccinium corymbosum</i> L. al 75%	-2,07800*	,01118	,000	-2,1100	-2,0460
		<i>Vaccinium corymbosum</i> L. al 25%	2,00800*	,01118	,000	1,9760	2,0400
	<i>Vaccinium corymbosum</i> L. al 25%	<i>Vaccinium corymbosum</i> L. al 100%	-4,99600*	,01118	,000	-5,0280	-4,9640
		<i>Vaccinium corymbosum</i> L. al 75%	-4,08600*	,01118	,000	-4,1180	-4,0540
		<i>Vaccinium corymbosum</i> L. al 50%	-2,00800*	,01118	,000	-2,0400	-1,9760
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	<i>Vaccinium corymbosum</i> L. al 100%	<i>Vaccinium corymbosum</i> L. al 75%	1,35800*	,01308	,000	1,3206	1,3954
		<i>Vaccinium corymbosum</i> L. al 50%	2,16600*	,01308	,000	2,1286	2,2034
		<i>Vaccinium corymbosum</i> L. al 25%	3,11000*	,01308	,000	3,0726	3,1474
	<i>Vaccinium corymbosum</i> L. al 75%	<i>Vaccinium corymbosum</i> L. al 100%	-1,35800*	,01308	,000	-1,3954	-1,3206
		<i>Vaccinium corymbosum</i> L. al 50%	,80800*	,01308	,000	,7706	,8454
		<i>Vaccinium corymbosum</i> L. al 25%	1,75200*	,01308	,000	1,7146	1,7894
	<i>Vaccinium corymbosum</i> L. al 50%	<i>Vaccinium corymbosum</i> L. al 100%	-2,16600*	,01308	,000	-2,2034	-2,1286
		<i>Vaccinium corymbosum</i> L. al 75%	-,80800*	,01308	,000	-,8454	-,7706
		<i>Vaccinium corymbosum</i> L. al 25%	,94400*	,01308	,000	,9066	,9814
	<i>Vaccinium corymbosum</i> L. al 25%	<i>Vaccinium corymbosum</i> L. al 100%	-3,11000*	,01308	,000	-3,1474	-3,0726
		<i>Vaccinium corymbosum</i> L. al 75%	-1,75200*	,01308	,000	-1,7894	-1,7146
		<i>Vaccinium corymbosum</i> L. al 50%	-,94400*	,01308	,000	-,9814	-,9066

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

En la Tabla 8, se observa que existen diferencias significativas entre los grupos de estudio, puesto que el valor de Sig es < 0.05 para todos los casos. Por ello debemos aplicar la prueba de subconjuntos de Tukey para identificar el mejor tratamiento.

Tabla 9. Prueba de subconjuntos de Tukey para de los halos de inhibición del extracto acuoso de *Vaccinium corymbosum* L. (arándano azul) frente a *Escherichia coli* ATCC 25922.

HSD Tukey ^a						
El extracto acuoso de <i>Vaccinium corymbosum</i> L.	N	Subconjunto para alfa = 0.05				
		1	2	3	4	5
<i>Vaccinium corymbosum</i> L. al 25%	5	8,2260				
<i>Vaccinium corymbosum</i> L. al 50%	5		10,2340			
<i>Vaccinium corymbosum</i> L. al 75%	5			12,3120		
<i>Vaccinium corymbosum</i> L. al 100%	5				13,2220	
Ciprofloxacino 5ug	5					33,4260
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

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

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 5,000.

Fuente: Elaboración propia

Tabla 10. Prueba de subconjuntos de Tukey para de los halos de inhibición del extracto acuoso de *Vaccinium corymbosum* L. (arándano azul) frente a *Proteus mirabilis* ATCC 29906.

HSD Tukey ^a						
El extracto acuoso de <i>Vaccinium corymbosum</i> L.	N	Subconjunto para alfa = 0.05				
		1	2	3	4	5
<i>Vaccinium corymbosum</i> L. al 25%	5	8,3240				
<i>Vaccinium corymbosum</i> L. al 50%	5		9,2680			
<i>Vaccinium corymbosum</i> L. al 75%	5			10,0760		
<i>Vaccinium corymbosum</i> L. al 100%	5				11,4340	
Ciprofloxacino 500mg	5					35,5260
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

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

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 5,000.

En las tablas 9 y 10, podemos observar que todas las medias de los tratamientos son diferentes y van aumentando a medida que aumenta la concentración del

extracto, en ambos casos el extracto acuoso de *Vaccinium corymbosum* L. (arándano azul) al 100 % presentan mayor diámetro, dando como resultados halos de inhibición 11,4340 mm y 13.2220 mm (sensibilidad baja) frente a *E. coli* ATCC 25922 y *Proteus mirabilis* ATCC 29906 respectivamente.

“Por lo tanto, se acepta la hipótesis alterna (H1) y se rechaza la hipótesis nula (H0)”.

- **Hipótesis específica 3.**

El extracto acuoso de *Vaccinium corymbosum* L. (arándano azul) en las distintas concentraciones del 25%, 50%, 75% y 100% presenta mejor susceptibilidad antibacteriana frente a *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Proteus mirabilis* ATCC 29906 en comparación con Ciprofloxacino.

H0: El extracto acuoso de *Vaccinium corymbosum* L. (arándano azul) en las distintas concentraciones del 25%, 50%, 75% y 100% no presenta mejor susceptibilidad antibacteriana frente a *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Proteus mirabilis* ATCC 29906 en comparación con Ciprofloxacino.

H1: El extracto acuoso de *Vaccinium corymbosum* L. (arándano azul) en las distintas concentraciones del 25%, 50%, 75% y 100% presenta mejor susceptibilidad antibacteriana frente a *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Proteus mirabilis* ATCC 29906 en comparación con Ciprofloxacino.

En la Tablas 9 y 10, se evidencia tanto para las cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Proteus mirabilis* ATCC 29906, que las medias de los diámetros a diferentes concentraciones son inferiores a los obtenidos por el ciprofloxacino, ello indica que el fármaco empleado tiene mayor diámetro de inhibición, por lo tanto, una mejor susceptibilidad frente a las cepas. Por lo tanto, se acepta la Hipótesis nula (H0) y se rechaza la Hipótesis alterna (H1).

IV. DISCUSIÓN

4.1. Discusión de resultados

La resistencia a los medicamentos se ha convertido recientemente en un problema generalizado en la atención médica, y el aumento de las infecciones resistentes a los medicamentos es mucho más rápido que el desarrollo de nuevos medicamentos aprobados para su uso en humanos. Por lo tanto, es imperativo desarrollar nuevos agentes antimicrobianos⁶¹. Los productos naturales son una fuente importante de agentes antibacterianos nuevos y altamente efectivos, que pueden usarse en la lucha contra la creciente resistencia a los medicamentos debido a la aparición de fenotipos bacterianos multirresistentes y ampliamente resistentes a los medicamentos⁵⁵

Por consiguiente, la presente investigación tuvo como objetivo general, evaluar la actividad antibacteriana del extracto acuoso de *Vaccinium corymbosum* L. (arándano azul) frente a *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Proteus mirabilis* ATCC 29906.

Para cumplir con dicho objetivo, se realizaron una variedad de ensayos para determinar la actividad antibacteriana del extracto acuoso de *Vaccinium corymbosum* L. (arándano azul) frente a cepas de “*Escherichia coli* ATCC 25922” y *Proteus mirabilis* ATCC 29906; el primer ensayo fue la prueba de solubilidad, en la que fue muy miscible en disolventes polares como el agua, y medianamente soluble en metanol y etanol, lo cual coincide con lo reportado por Benavides y Coñez (2021) en su estudio del extracto hidroalcohólico de *Vaccinium corymbosum* L. (arándanos) quien se muestra muy soluble en agua, etanol y metanol⁵⁶. Troncoso et.al., en su estudio sobre Implicancias Estructurales y Fisiológicas de la Célula Bacteriana en los Mecanismos de Resistencia Antibiótica, Opina que la actividad candidiásica puede mejorarse mediante el uso de diferentes disolventes y diferentes procedimientos de extracción, teniendo en cuenta la polaridad de los compuestos activos⁵⁷.

Respecto a la hipótesis general, el extracto acuoso de *Vaccinium corymbosum* L. (arándano azul) presenta débil actividad antibacteriana frente a *Escherichia coli*

ATCC 25922 y *Proteus mirabilis* *ATCC 29906* muy por debajo del control ciprofloxacino quien si mostró sensibilidad alta (33.42 mm para *E. coli*, y 35.52 mm para *P. mirabilis*), el efecto hallado fue similar al reportado por Reyes G.³¹ (2019) (10.3 mm a la concentración de 100%) sobre *E. coli*, en este estudio Reyes también confrontó al extracto sobre *E. aureus* donde la concentración al 100% se mostró muy sensible en un rango de 16.5 mm., este hecho puede deberse a que la *E. coli* y *P. mirabilis* (Gram negativas) poseen una pared celular de unos 10nm de espesor y químicamente más complejas que las Gram positivas, lo cual contribuye a su resistencia³¹.

Asimismo, Peres J. (2019) evidenció resultados similares en su estudio sobre actividad antibacteriana *in vitro* del extracto etanólico de *Vaccinium macrocarpon* (Cranberry), sobre *E. coli* uropatógena comparado con ciprofloxacino, donde encontró que presenta baja sensibilidad a concentraciones de 75% (12,67mm) y medianamente sensible al 100% (16,25mm), y sumamente sensible al ciprofloxacino (fármaco control), evidenciándose que mayor es el efecto al aumentar la concentración. Esto se debe a que las cepas de *E. coli* uropatógena difiere de otras cepas, la cual tiene mejor capacidad de unión al epitelio urogenital, y al aumento en la generación del antígeno de su cápsula, así mismo se puede deber a que el nivel del principio activo presente en *Vaccinium corymbosum* varia en su conformación, la misma que por diversas situaciones se ve afectada como, por ejemplo; características genotípicas, método de obtención del principio activo, lugar de origen del fruto (geográfica, condiciones ambientales y composición del suelo), y de esta manera la concentración usada es ineficaz para causar el efecto antibacteriano⁵⁶.

En cuanto a la hipótesis específica 1, el ensayo de tamizaje fitoquímico demostró la presencia de antocianinas, los alcaloides, y taninos los principales metabolitos con mayor presencia, seguido de compuestos fenólicos con mediana presencia y saponinas y flavonoides con mínima presencia; resultados similares reportaron Benavides y Coñez (2021), en el extracto hidroalcohólico de *Vaccinium corymbosum* L. (arándanos) donde encontraron la presencia de antocianinas, flavonoides,

compuestos fenólicos⁵⁷; Troncoso C., et.al., indica que las antocianinas se han asociado con una amplia gama de propiedades biológicas y farmacológicas, también son eficaces en la prevención y el tratamiento de muchas enfermedades crónicas⁵⁸, Ponder A., y col., en la investigación Diferenciación genética en contenido de antocianina entre frutos de baya, refiere que las antocianinas que pertenecen al grupo de los polifenoles deben su acción antibacteriana a que inhiben la adhesión de las bacterias sobre las mucosas⁵⁹, Osorio E., en su libro de Farmacognosia refiere que los taninos condensados también son conocidos como protoantocianidinas, los cuales logran pasar a través de la pared bacteriana e interferir con el metabolismo de la célula causando su muerte⁶⁰ la diferencia se da cuando la bacteria es Gram positiva pues la estructura de su pared bacteriana es más simple, en contraposición con las bacterias Gramnegativas como las de nuestro estudio cuya estructura es más compleja por lo que la acción de ellos taninos sobre la misma es más lenta. Moloney M., en un artículo científico sobre Productos naturales como fuente de nuevos antibióticos, indica que los alcaloides también alteran la membrana celular bacteriana⁶¹; Quezada K. (2020) opina que una de las razones para que en ambos extractos muestren baja sensibilidad puede deberse al tipo de disolvente, o a la variedad genética de los metabolitos secundarios^{62,63}. Spinardi y col., (2021) demostraron que la acumulación de antocianinas está fuertemente regulada por el desarrollo y el genotipo, y los factores ambientales, asociados al gradiente altitudinal, lo que puede influir en su actividad antibacteriana⁶⁴.

Respecto a la hipótesis específica 2, el ensayo microbiológico *in vitro* para determinar el efecto antibacteriano del extracto acuoso de *Vaccinium corymbosum* L. (arándano azul) en las distintas concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% frente a cepas *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Proteus mirabilis* ATCC 29906, los extractos en estudio presentaron sensibilidad baja, frente a *Escherichia coli*, que no sobrepasaron al del estándar ciprofloxacino. Acevedo B., (2020) quien evaluó el efecto antibacteriano *in vitro* del *Vaccinium corymbosum* L. sobre *Escherichia coli* uropatógena, trabajó con el extracto etanólico de arándanos azules provenientes de la región de La Libertad, en las concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100%,

encontró diferencias con nuestro estudio en la concentración de 25%, la del extracto etanólico dio nula (<8mm), frente a la del extracto acuoso que dio baja (8,32mm), en las demás concentraciones sobre *Escherichia coli* uropatógena, sus resultados fueron similares, esta diferencia podría deberse a que en la obtención del extracto etanólico no se consideró la cáscara del fruto que es donde más se concentran las antocianinas³⁰. Yang W., y col., (2022) en el estudio: Estructura y función de las antocianinas de arándanos: una revisión de los avances recientes, informa que estos resultados podrían deberse a la inestabilidad y la dificultad de absorción y utilización por parte del cuerpo humano, además de las diferencias en el contenido total de antocianinas entre cultivares podrían deberse principalmente a los genotipos y las condiciones ambientales de crecimiento (plasticidad fenotípica) que interfirieron con la biosíntesis de polifenoles y antocianinas⁶⁵.

Así mismo, en nuestro estudio se encontró que el extracto acuoso de *Vaccinium corymbosum* L. (arándano azul) frente a la cepa bacteriana *Proteus mirabilis*, también evidenció una sensibilidad baja con un halo de inhibición medio de 13.25 mm, a la concentración del 100% seguido de los extractos al 75%, 50% y 25% con halos de inhibición medios de 12.34, 10.25 y 8.25 mm, respectivamente, que no sobrepasan al del estándar ciprofloxacino, Nicolosi et.al.,⁶⁰ quienes evaluaron la eficacia de los taninos condensados (proantocianidinas), contenidos en los arándanos, en la prevención de las infecciones urinarias, informan que son pocos los estudios sobre la acción del arándano sobre *Proteus mirabilis*, a pesar que la infección por *Proteus* provoca daños severos en los tejidos con respecto a la de *E. coli*, sus resultados muestran que, además de la conocida actividad sobre cepas uropatógenas de *E. coli*, también son activas sobre cepas de *P. mirabilis*, reduciendo la capacidad de adherirse a las células epiteliales de la vejiga⁶⁶.

Respecto a la hipótesis específica 3, el extracto acuoso de *Vaccinium corymbosum* L. (arándano azul) en las distintas concentraciones del 25%, 50%, 75% y 100% presenta mejor susceptibilidad antibacteriana frente a *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Proteus mirabilis* ATCC 29906 en comparación con Ciprofloxacino, observamos que nuestros resultados reportan sensibilidad baja frente a ambas cepas que no

sobre pasan al estándar ciprofloxacino, resultados que se alinean con lo reportado en el estudio realizado por Reyes G. (2019) sobre el efecto antibacteriano in vitro del extracto alcohólico de *Vaccinium corymbosum* L. sobre *E. coli* y *S. aureus*, donde reportó que todas las concentraciones presentaron baja sensibilidad frente a la cepa *E. coli* y el control ciprofloxacino se mostró sumamente sensible (36.6mm)³¹, al igual que Acevedo B. (2020) quien evaluó el efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Vaccinium corymbosum* L., sobre *E. coli* uropatógena y cuyas concentraciones de 25, 50, 75 y 100% no superaron al control ciprofloxacino que obtuvo una sensibilidad alta (33,70 mm)³⁰. McCall J., y col., (2013) investigaron en Canadá, como el arándano afecta comportamientos seleccionados esenciales para la virulencia en *Proteus mirabilis* HI4320, sus resultados muestran que las motilidades de natación y enjambre y la diferenciación de células enjambre fueron inhibidas por polvo de arándano⁶⁷. Son pocos los estudios que se realizan sobre *P. mirabilis*, la mayoría se realizan sobre el mayor uropatógeno *E. coli*, causante de alrededor del 90% de las cistitis agudas no complicadas como refiere el estudio de Nicolosi y col⁶⁶.

En otro estudio Adrianzen y Chiroque (2017) probaron el efecto del zumo del arándano (extracto acuoso) al 25%, 50% y 100%, sobre *E. coli* donde reportaron una sensibilidad nula para todas las concentraciones (0.0; 2.0 y 4.0mm respectivamente) y el control ciprofloxacino si se mostró muy sensible en un rango de 45.0 mm, estos resultados podrían deberse a la forma de extracción utilizada para obtener los principios activos y a la resistencia de la bacteria⁶⁸, coincide con lo reportado por Gutiérrez (2014) en su estudio, efecto del extracto de *Vaccinium corymbosum* sobre el crecimiento de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* donde todas las concentraciones mostraron sensibilidad baja (50% 9,11mm; 75% 10,70mm y 100% 11,90mm), frente a *E. Coli* e igual fue frente a *E. aureus* (50% 10,22mm; 75% 12,34mm) y sensibilidad media al 100% 14,29 mm), la acción de los metabolitos puede estar diferenciada por los cambio de expresión de los diferentes genes y también podría estar influenciado por el pH del zumo del arándano, se reitera la resistencia de la cepa bacteriana⁶⁹.

4.2. Conclusiones

El extracto acuoso de *Vaccinium corymbosum* L. (arándano azul) presenta débil actividad antibacteriana frente a cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Proteus mirabilis* ATCC 29906.

Los metabolitos secundarios que se identificaron en la prueba de tamizaje fitoquímico del extracto acuoso de *Vaccinium corymbosum* L. (arándano azul) fueron alcaloides, taninos, y antocianinas; en menor escala compuestos fenólicos, saponinas y flavonoides.

El extracto acuoso de *Vaccinium corymbosum* L. (arándano azul) a las concentraciones de 25, 50, 75 y 100% presenta débil actividad antibacteriana frente a cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Proteus mirabilis* ATCC 29906.

El Ciprofloxacino presenta mayor susceptibilidad antibacteriana que todas las concentraciones del extracto acuoso de *Vaccinium corymbosum* L. (arándano azul) tanto para cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Proteus mirabilis* ATCC 29906.

4.3. Recomendaciones

Realizar investigaciones con diferentes partes del fruto de *Vaccinium corymbosum* L. (arándano azul) como la cáscara donde contiene mayor concentración de antocianinas

Realizar estudios con diferentes tipos de extractos para obtener mejores resultados de los principios activos

Realizar estudios mejorando la extracción de los taninos concentrados (protoantocianidinas)

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Aragón I., Herrera B., Queipo M., Castillo E., Del Moral J., Gómez, J., et.al. El microbioma del tracto urinario en la salud y la enfermedad. [Internet] Revista Eur Urol Focus. Enero de 2018; 4(1): 128-138. [Citado:2021, marzo 5]. Disponible en: <https://doi: 10.1016 / j.euf.2016.11.001>.
2. Medina M., y Castillo E. Una introducción a la epidemiología y la carga de las infecciones del tracto urinario. [Internet] Avances terapéuticos en urología 11 (2019) [Citado:2021, marzo 5]. Disponible en: <https://doi.org/10.1177/1756287219832172>
3. Foxman B. Síndromes de infección del tracto urinario: ocurrencia, recurrencia, bacteriología, factores de riesgo y carga de la enfermedad. [Internet]. Infect Dis Clin North Am 2018; 281:1–13. [Citado: 2022, enero 28]. Disponible en: <https://femalehealthawareness.org/es/infecciones-del-tracto-urinario/>
4. Jiménez J., Carballo K., y Chacón N. Manejo de infecciones del tracto urinario. [Internet] Rev. costarricenses. Salud pública (2017) 26(1): 1-10. [citado: 2022 enero 23]; Disponible en: http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1409-14292017000100001&lng=en.
5. Baenas D., Saad E., Diehl F., Musso D., González J., Russo V., et al. Epidemiología de las infecciones urinarias asociadas a catéter y no asociadas a catéter en un hospital universitario de tercer nivel. [Internet]. Rev. chil. infectol. 2018; 35(3): 246-252. [citado: 2021 diciembre 11] Disponible en: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182018000300246&lng=es.
<http://dx.doi.org/10.4067/s0716-10182018000300246>.
6. Acevedo V., y Castillo E. Prevalencia y resistencia microbiana en las infecciones urinarias de la mujer en el climaterio. [Internet] Archivos de Ginecología y Obstetricia 2019. 57(2): 119-130. [Citado: 2021, noviembre 3] Disponible en: chrome-

extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/viewer.html?pdfurl=https%3A%2F%2Fwww.superine.uy%2Fwpcontent%2Fuploads%2F2020%2F05%2FATB-en-ITU-Acevedo-Castillo-.pdf&clen=1436349&chunk=true

7. Navarrete P., Loayza M., Velasco J., Y Benites J. Caracterización clínica de infecciones de tracto urinario producidas por enterobacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido. [Internet] Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas 2021, 40(1) [citado 2021 nov., 24] Disponible en: <http://www.revibiomedica.sld.cu/index.php/ibi/article/view/599>
8. Carriel M., y Ortiz J. Prevalencia de infección del tracto urinario y perfil de susceptibilidad antimicrobiana en Enterobacterias. [Internet]. Revista Vive, 4(11), 217–228. (2021) [citado 2021 nov., 24] Disponible en: <https://doi.org/10.33996/revistavive.v4i11.89>
9. Wagenlehner, M., et al. Terapia herbal no antibiótica (BNO 1045) versus terapia antibiótica (fosfomicina trometamol) para el tratamiento de infecciones agudas del tracto urinario inferior no complicadas en mujeres: un ensayo de fase III, doble ciego, de grupos paralelos, aleatorizado, multicéntrico, de no inferioridad. [Internet] Urología internationalis 101(3): 327-336. (2018) [citado: 2021 nov., 14] Disponible en: <https://doi.org/10.1159/000493368>
10. Solano Mora A, Solano Castillo A, Ramírez Vargas X. Actualización del manejo de infecciones de las vías urinarias no complicadas. [Internet] Rev. méd. sinergia [Internet] 2020, 5(2):356. [citado; 2022 enero 30]; Disponible en: <https://www.revistamedicasinergia.com/index.php/rms/article/view/356>
11. Sanz L., Bosque B., Barlés A., Redol M., Portilla C., y Rubies M. Ingesta de Arándano rojo e infecciones del tracto urinario. [Internet]. Revisión bibliográfica. (2017) (84):188-193. [citado; 2022 enero 19]; Disponible en: <https://publicacionesdidacticas.com/hemeroteca/articulo/084025>
12. Bisso A. Fundamentos básicos de la terapia antimicrobiana. [Internet] Rev Soc Peru Med Interna. 2018;31(1):10-23. [citado: 2022, febrero 8]. Disponible en: <https://doi.org/10.36393/spmi.v31i1.41>

13. Sun Y., Li M., Mitra S., Hafiz R., Debnath B., Lu X., y col. Perfiles fitoquímicos comparativos y análisis de la actividad enzimática antioxidante del arándano alto del sur (*Vaccinium corymbosum*) en diferentes etapas de desarrollo. [Internet] Moléculas; 23(9): 2209. (2018) [Citado: 2021 noviembre 3]. Disponible en:
<https://doi.org/10.3390/molecules23092209>
14. Mantzorou M., y Giaginis C. Consumo de arándanos contra las infecciones del tracto urinario: estado del arte clínico y perspectivas de futuro. [Internet] Biotecnología farmacéutica actual 19(13): 1049-1063. (2018). [Citado: 2021, marzo 24]. Disponible en:
<https://doi.org/10.2174/1389201020666181206104129>
15. Rodríguez L. Fitoterapia perspectivas de futuro. Libro de resúmenes, XII Congreso de Fitoterapia Ciudad de Oviedo. 2020 octubre 21-24. España, SEFIT (2020)
16. Veiga M., Costa E., Silva S., y Pintado M. Impacto de los extractos de plantas sobre la salud humana: una revisión. [Internet] Revisiones críticas en ciencia de los alimentos y nutrición, (2020), 60 (5):873-886. [Citado: 2022 febrero 3]. Disponible en:
<https://doi.org/10.1080/10408398.2018.1540969>
17. Varijakzhan D., Chong C., Abushelaibi A., Lai K., Lim S-HE. Extractos de plantas del Medio Oriente: una alternativa a los problemas de la medicina moderna. [Internet] Moléculas. 2020; 25(5):1126. [Citado: 2022 febrero 3]. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/molecules25051126>
18. Lamponi S. La importancia del Análisis Estructural y Funcional de Extractos en Plantas. [Internet] plantas _ 2021; 10(6):1225. [Citado: 2022 febrero 3]. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/plants10061225>
19. Bustamante C., y Buitron L. Néctar de aguaymanto (*Physalis peruviana*), balsamina (*Momordica charantia* L.) y arándanos (*Vaccinium myrtillus*) y su efecto en la glicemia. (2020). [tesis para optar el título de Lic., en Bromatología y Nutrición] Huacho: Universidad nacional José Faustino Sánchez Carrión. <http://200.48.129.167/handle/UNJFSC/4046>

20. Lila M., y Dunlap K. Respondiendo a la llamada de lo salvaje: polifenoles en la práctica terapéutica tradicional. [Internet] Avances recientes en la investigación de polifenoles (2021) 7(1): 49-67. [Citado: 2022 febrero 3]. Disponible en: <https://doi.org/10.1002/9781119545958.ch3>
21. Cao Yi, Xie L., Liu K., Liang Y., Dai X., Wang X et al. El potencial antihipertensivo de los flavonoides de la medicina herbaria china: una revisión. Investigación farmacológica (2021) 174: 105919. [Citado: 2022 febrero 23]. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2021.105919>
22. Imran, Tasnim F. y Jacob Joseph. Terapias herbales y suplementos de micronutrientes en enfermedades cardiovasculares. Enfermedades Cardiovasculares (2017): 1.129. <https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=WI49DwAAQBAJ&oi=fnd&pg=PA129&dq=the+blueberry-+phytotherapy>
23. Li Z., Zhang H., Li Y., Chen H., Wang C., Wong V., et al. Fitoterapia con polifenoles de hojas de arándanos para aliviar la enfermedad del hígado graso no alcohólico mediante la mejora de la función mitocondrial y la defensa oxidativa. [Internet] Fito medicina. (2020) 69:153-209. [Citado: 2022 febrero 24]. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2020.153209>
24. Huang W., Yan Z., Li D., Ma Y., Zhou J. y Sui Z. Efectos antioxidantes y antiinflamatorios de las antocianinas de arándanos en las células endoteliales de los capilares retinianos humanos inducidas por glucosa alta. [Internet] Medicina Oxidativa y Longevidad Celular, (2018)2018:1-10. [Citado: 2022 febrero 24]. Disponible en: <https://doi.org/10.1155/2018/1862462>
25. Weber, J. Usos tradicionales y efectos beneficiosos de varias especies de plantas productoras de bayas en el este de Canadá. [Internet] Botánica (2021). 99(999): 1-8. [Citado: 2022 febrero 17]. Disponible en: <https://doi.org/10.1139/cjb-2021-0086>
26. Reyes L. Efecto gastroprotector del extracto hidroalcohólico de *Vaccinium corymbosum* (arándano) sobre las úlceras gástricas inducidas en *Rattus*

- norvegicus* var. *Albinus*. 2020 [tesis para optar el título de Químico Farmacéutico] Chimbote: Universidad católica os ángeles de Chimbote. <http://repositorio.uladech.edu.pe/handle/123456789/11162>
27. Jensen H., Struve C., Christensen S., Krogfelt K. El jugo de arándano y las combinaciones de sus ácidos orgánicos son efectivos contra la infección experimental del tracto urinario. [Internet]. *Revista Microbiol*, 8:542. (2017) [Citado: 2021 noviembre 3]. Disponible en: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00542>
28. Alshaibani D., Zhang R., y Wu V. Características antibacterianas y actividad de las proantocianidinas de *Vaccinium macrocarpon* contra *Escherichia coli* diarreogénica. [Internet] *Revista de alimentos funcionales* (2017) 39: 133-138. [Citado: 2021, noviembre 15]. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.10.003>.
29. Sachún J. Efecto antibacteriano del extracto acuoso de *Vaccinium corymbosum* (Arándano) comparado con mupirocina sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 estudio in vitro. [Tesis para obtener el título de Médico Cirujano]. Trujillo: Universidad César Vallejo, 2019. Recuperado a partir de: <https://repositorio.ucv.edu.pe/handle/20.500.12692/29794>
30. Acevedo B. Efecto antibacteriano in vitro del *Vaccinium corymbosum* L. sobre *Escherichia coli* uropatógena. (2020). [Tesis para optar el título de Médico Cirujano] Trujillo: universidad Privada Antenor Orrego. <http://repositorio.upao.edu.pe/handle/20.500.12759/6031>
31. Reyes G. Efecto antibacteriano in vitro de *Vaccinium corymbosum* L. sobre *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. [Tesis para obtener el título de Médico Cirujano]. La Libertad: Universidad Nacional de Trujillo, 2019. Recuperado a partir de: <http://www.dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/11420>
32. Varela S., Musuña G. Evaluación de la eficacia antimicrobiana in vitro de cápsulas de extracto fluido de *Vaccinium floribundum* kunth (MORTIÑO); en infecciones agudas del tracto urinario. [Tesis para obtener el título de

- Ingeniero en Biotecnología]. Ecuador: Universidad Politécnica Salesiana de Quito, 2020. Recuperado a partir de:
<https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/18427/1/UPS-QT14369.pdf>
33. González D., Moreno M., y Bartolomé B. Polifenoles de arándano y prevención contra infecciones del tracto urinario: consideraciones relevantes. [Internet] *Moléculas* 25 (15): 3523, 2020. [Citado: 2021, diciembre 15]. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/molecules25153523>
34. Lalaleo M. Efecto inhibitorio del extracto alcohólico de mortiño (*Vaccinium floribundum* kunth) sobre el *Streptococcus mutans*. [Tesis para obtener el título de Odontólogo]. Ecuador: Universidad Central del Ecuador, 2016. Recuperado a partir de:
<http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/7753/1/T-UCE-0015-392.pdf>
35. Acuña D. Cuantificación de antocianinas totales del extracto etanólico de *Vaccinium corymbosum* L. procedentes de las Provincias de Huamachuco y Virú. [Tesis para optar el grado de Bachiller] Universidad Nacional de Trujillo, 2020. <https://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/16290>
36. Afandy J. Detección fitoquímica, capacidad antioxidante y toxicidad de los extractos de fruta de arándano (*Vaccinium corymbosum* L.). [Internet] Federación Asiática de Ciencias Farmacéuticas (AFPS) 2019. [Citado: 2022 enero 28]. Disponible en: <http://conference.ui.ac.id/afps/AFPS-ICAPPS2019/paper/view/24102>
37. Ani P. y Okolie S. Análisis comparativo de las composiciones fitoquímicas de la hoja, la corteza del tallo y la raíz de *Azadirachta Indica* (neem). [Internet] *Revista Universal de Investigación Farmacéutica*. (2018). 3(5): 46-50. [Citado: 2022 enero 28]. Disponible en: <https://doi.org/10.22270/ujpr.v315.201>
38. Spadoni E. y Karboune S. Comparación de enfoques de extracción alcalina asistida por microondas y enzimática para la generación de oligosacáridos a partir de orujo de arándano americano (*Vaccinium macrocarpon*). [Internet] *Revista de ciencia de los alimentos* (2020) 85.8: 2443-2451. [Citado: 2022 enero 28]. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/1750-3841.15352>

39. González D., Cardenas N., Rodriguez J., Alcalá V., Liu H., Khoo C., et al. Eficacia de los metabolitos fenólicos derivados del arándano rojo y *Lactobacillus* spp. en la prevención de infecciones del tracto urinario. Actividad antiadhesiva frente a uropatógenos. (2018). II Jornadas Científicas CIAL Fórum, celebradas del 22 al 23 de noviembre de 2018 en el Instituto de Investigación en Ciencias de la Alimentación (CIAL). [Citado: 2022 enero 28]. Disponible en:
<https://digital.csic.es/handle/10261/194504>
40. Sánchez F. Fundamentos epistémicos de la investigación cualitativa y cuantitativa: consensos y disensos. [Internet] Revista Digital de Investigación en Docencia Universitaria 2019, 13(1): 102-122. [Citado: 2022 enero 28]. Disponible en:
<https://dx.doi.org/10.19083/ridu.2019.644>
41. Guija M., Guija R. Metodología de la Investigación Científica. Perú, Guigraf E.I.R.L. 2019. Capítulo I: La Dialéctica y la Investigación Científica [Citado: 2021 noviembre 14].
42. Hernández R., Fernández C. y Baptista P. Metodología de la Investigación (6 ed., págs. 88-101). México: McGraw-Hill. (2014).
43. Prieto B. El uso de los métodos deductivo e inductivo para aumentar la eficiencia del procesamiento de adquisición de evidencias digitales. [Internet] Cuadernos de contabilidad 18.46 (2017): 56-82. [Citado: 2021, junio 15]. Disponible en:
http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-14722017000200056
44. Varela S., Musuña G. Evaluación de la eficacia antimicrobiana in vitro de cápsulas de extracto fluido de *Vaccinium floribundum* kunth (mortiño); en infecciones agudas del tracto urinario. [Tesis para obtener el título de Ingeniero en Biotecnología]. Ecuador: Universidad Politécnica Salesiana de Quito, 2020. [Citado: 2021, junio 15]. Disponible en:
<https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/18427/1/UPS-QT14369.pdf>

45. Moynelo I. Evaluación fitoquímica del extracto acuoso al 50% del fruto de *Elaeis guineensis* Jacq (palma africana). [Internet]. Revista de Ciencias Farmacéuticas y Alimentarias (2019) 4(2): 17. [Citado: 2021, junio 15]. Disponible en: <file:///C:/Users/soledad/Downloads/123-469-1-PB.pdf>
46. Inocente-Camones M., Guija-Poma E., Zarzosa-Norabuena E., Loja Herrera B., Ponce-Pardo J. Efecto hipoglicemiante de los extractos acuoso y etanólico de *Psidium guajava* L. (Guayaba) en ratas diabéticas inducidas por aloxano Horiz. Med. [Internet]. 2015 Abr [citado 2022 Feb 14]; 15(2): 41-48. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1727-558X2015000200007&lng=es.
47. Escobar L. Efecto antibacteriano in vitro de extractos hidroalcohólicos de los frutos de *Vaccinium corymbosum* (arándano) y *Vaccinium floribundum* (mullaca) sobre *Staphylococcus aureus*. [Tesis para optar el título profesional de Químico Farmacéutico] Trujillo: Universidad Católica los Ángeles, Chimbote. <http://repositorio.uladech.edu.pe/handle/123456789/20488>
48. Bermúdez S., Romero G., Peñuela M., Cevallos A., Romero J., Guamán L., et.al. Caracterización Fitoquímica y elucidación estructural de metabolitos secundarios de *Picramnia sp.*, en la Amazonía Ecuatoriana. [Internet]. Info Analítica; 8(2):2-13 (2020) [Citado: 2021, junio 15]. Disponible en: DOI: 10.26807/ia.v8i2.129
49. Rodríguez J., Hernández M., y Méndez L. Manual de prácticas de Farmacognosia. Universidad Veracruzana. 2020, p.17. <https://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:-tA6lWu9aXkJ:https://www.uv.mx/qfb/files/2020/09/Guia-de-Farmacognosia.pdf+&cd=15&hl=es-419&ct=clnk&gl=pe>
50. Valencia del Toro G., y Garín M. Manual de prácticas de productos naturales. Instituto Politécnico Nacional Unidad Profesional Interdisciplinaria De Biotecnología 1° edición, 2010. https://www.academia.edu/10470241/Manual_Prod_Naturalesagosto2010

51. Química Orgánica y Biológica – Laboratorio 3. 2017.
<https://www.exa.unicen.edu.ar › cátedras › química>
52. Manual de prácticas Farmacognosia. Universidad Salazar., México 2015,
p..40
https://www.academia.edu/24445157/MANUAL_FARMACOGNOSIA_modificado
53. Hernández M., López D. Algunos aspectos relacionados con la Ética en el Laboratorio Clínico. [Internet]. Rev Cuba Med Int Emerg. (2016) 15(2): 73-81. [Citado: 2021, junio 8] Disponible en: <http://www.revmie.sld.cu/index.php/mie/article/view/150>
54. Duraffourd C., Lapraz J. Cuaderno de Fitoterapia Clínica. Editorial Masson–Francia. 1983
55. Yan Y, Li X, Zhang C, Lv L, Gao B, Li M. Progreso de la investigación sobre actividades antibacterianas y mecanismos de alcaloides naturales: una revisión. [Internet] antibióticos _ 2021; 10(3):318. [Citado: 2021, junio 21] Disponible en: <https://doi.org/10.3390/antibióticos10030318>
56. Peres J. Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de *Vaccinium Macrocarpon* (cranberry), sobre *Escherichia Coli* uropatógena comparado con Ciprofloxacino. (2019). [Tesis para optar el título de Médico Cirujano] Trujillo: Universidad César Vallejo
<https://repositorio.ucv.edu.pe/handle/20.500.12692/40318>
57. Coñez J., y Benavides J. Efecto Antibacteriano, in vitro, del extracto hidroalcohólico de *Vaccinium corymbosum* L.(arándanos) en cepas de *Streptococcus pyogenes*. [Tesis para optar el título de Químico Farmacéutico] Huancayo: Universidad Privada Franklin Roosevelt, 2021.
<https://repositorio.uoosevelt.edu.pe/handle/ROOSEVELT/469>
58. Troncoso C., Pavez M., Santos A., Salazar R., Barrientos L. Implicancias Estructurales y Fisiológicas de la Célula Bacteriana en los Mecanismos de Resistencia Antibiótica. En t. J. Morphol. [Internet]. 2017 [citado 2022 mayo 11]; 35(4): 1214-1223. Disponible en:

[http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-95022017000401214&lng=es.](http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-95022017000401214&lng=es) [http://dx.doi.org/10.4067/S0717-95022017000401214.](http://dx.doi.org/10.4067/S0717-95022017000401214)

59. Ponder A., Hallmann E., Kwolek M., Średnicka D., Kazimierczak R. Diferenciación genética en contenido de antocianina entre frutos de baya. [Internet] Revista actual Cuestiones Mol. Biol. 2021, 43, 36-51. [Citado: 2021, junio 21] Disponible en: <https://doi.org/10.3390/cimb43010004>
60. Osorio E. Farmacognosia. Universidad de Antioquia, Colombia. p.78-81. (2014)
61. Moloney M. Productos naturales como fuente de nuevos antibióticos. [Internet] Tendencias Pharmacol Ciencia 2016;37(8):689-701. [Citado: 2021, junio 21] Disponible en: <https://doi:10.1016/j.tips.2016.05.001>. Epub 2016 Jun 4. PMID: 27267698.
62. Quezada K. Caracterización biodirigida de compuestos antioxidantes y antimicrobianos de *Jatropha dioica* originaria de Durango. Diss. Universidad Juárez del Estado de Durango. Facultad de Medicina y Nutrición., 2020. <http://repositorio.ujed.mx/jspui/handle/123456789/83>
63. López-Goldar X., et al. La inducibilidad de los metabolitos secundarios de la planta en el tallo predice la variación genética en la resistencia contra un insecto herbívoro clave en el pino marítimo. [Internet] Fronteras en la ciencia de las plantas 9 (2018): 1651. [Citado: 2022, marzo 21] Disponible en: <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01651>
64. Spinardi A., Cola G., Gardana C., y Mignani I. Variación del contenido y perfil de antocianinas a lo largo del desarrollo de la fruta y la maduración de cultivares de arándanos highbush cultivados en dos altitudes diferentes. [Internet] Fronteras en la ciencia de las plantas (2019): 1045. [Citado: 2022, marzo 21] Disponible en: <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01045>
65. Yang W., Guo Y., Liu M., Chen X., Xiao X., Wang, S., et.al. Estructura y función de las antocianinas de arándanos: una revisión de los avances recientes. [Internet] Revista de alimentos funcionales 88 (2022): 104864. [Citado: 2022, marzo 29] Disponible en:

<https://doi.org/10.1016/j.jff.2021.104864>

66. Nicolosi D., Tempera G., Genovese C. y Furneri P. Actividad antiadherente de las proantocianidinas de tipo A2 (un componente principal del arándano) en cepas uropatógenas de *E. coli* y *P. mirabilis*. [Internet]. *Antibióticos*, 3(2), 143-154. (2014) [Citado: 2022, febrero 24] Disponible en: <https://doi.org/10.3390/antibióticos3020143>
67. McCall J., Hidalgo G., Asadishad B., y Tufenkji N. El arándano afecta comportamientos seleccionados esenciales para la virulencia en *Proteus mirabilis* HI4320. [Internet] *Revista canadiense de microbiología*. 59 (6): 430-436 [Citado: 2022, febrero 24] Disponible en: <https://doi.org/10.1139/cjm-2012-0744>
68. Adrianzen J, y Chiroque J. Efecto in vitro del zumo de *Vaccinium corymbosum* L. sobre *Escherichia coli*. [Tesis para optar el título de Químico Farmacéutico] Universidad Nacional de Trujillo. 2017. <https://1library.co/document/6qmg307q-efecto-vitro-zumo-vaccinium-corymbosum-sobre-escherichia-coli.html>
69. Ángel Gutiérrez J. Efecto del extracto de *Vaccinium corymbosum* sobre el crecimiento de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* en condiciones de laboratorio, 2014. [Tesis para obtener el título de Biólogo - Microbiólogo] Universidad Nacional de Trujillo. 2015. <https://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/4531>

ANEXOS

ANEXO A: Instrumentos de recolección de datos

Tabla A: Marcha fitoquímica del extracto acuoso de *Vaccinium corymbosum* L. (arándano azul)

IDENTIFICACION DE METABOLITOS SECUNDARIOS		
Metabolitos Secundarios	Reactivos	Resultados
Polifenoles		
Flavonoides		
Antocianinas		
Taninos		
Saponinas		

Donde:

- (-) Ausente
- (+) Escaso
- (++) Leve
- (+++) Moderado
- (++++) Abundante

Tabla B: Instrumento de recolección de datos de la actividad antibacteriana del extracto acuoso de *Vaccinium corymbosum* L. (arándano azul)

CEPAS	<i>E. coli</i>			<i>P. mirabilis</i>				
Concentración del extracto acuoso (%)	Halos de inhibición (mm)							
	n (número de ensayos microbiológicos)			X (promedio)	n			X
	1	2	3		1	2	3	
100								
75								
50								
25								

Escala interpretativa Duraffourd y Lapraz (1983)⁵⁴

- (-) Nula: Diámetro (< 8 mm)
- (+) Sensible bajo: Diámetro (8 - 14 mm)
- (++) Medio (muy sensible): Diámetro (14 - 20 mm)
- (+++ Sumamente sensible: Diámetro (> 20 mm)

Anexo B: MATRIZ DE CONSISTENCIA: Actividad antibacteriana del extracto acuoso de *Vaccinium corymbosum* L. (arándano azul) frente a *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Proteus mirabilis* ATCC 29906.

Formulación del problema	Objetivos	Hipótesis
Problema General	Objetivo General	Hipótesis General
¿El extracto acuoso de <i>Vaccinium corymbosum</i> L. (arándano azul) poseerá actividad antibacteriana frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 y <i>Proteus mirabilis</i> ATCC 29906?	Evaluar la actividad antibacteriana del extracto acuoso de <i>Vaccinium corymbosum</i> L. (arándano azul) frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 y <i>Proteus mirabilis</i> ATCC 29906.	El extracto acuoso de <i>Vaccinium corymbosum</i> L. (arándano azul) presenta actividad antibacteriana frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 y <i>Proteus mirabilis</i> ATCC 29906.
Problemas Específicos	Objetivos Específicos	Hipótesis Específicas
-¿Qué metabolitos secundarios responsables de la actividad antibacteriana estarán presentes en el extracto acuoso de <i>Vaccinium corymbosum</i> L. (arándano azul)?	Identificar los metabolitos secundarios responsables de la actividad antibacteriana que estarán presentes en el extracto acuoso de <i>Vaccinium corymbosum</i> L. (arándano azul)	El extracto acuoso de <i>Vaccinium corymbosum</i> L. (arándano azul) presenta metabolitos secundarios responsables de la actividad antibacteriana frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 y <i>Proteus mirabilis</i> ATCC 29906, que pertenecen al grupo de antocianinas.
-¿A qué concentración del 25%, 50%, 75% y 100% el extracto acuoso de <i>Vaccinium corymbosum</i> L. (arándano azul) poseerá actividad antibacteriana frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 y <i>Proteus mirabilis</i> ATCC 29906?	Determinar la máxima concentración del extracto acuoso de <i>Vaccinium corymbosum</i> L. (arándano azul) al 25%, 50%, 75% y 100% que poseerá actividad antibacteriana frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 y <i>Proteus mirabilis</i> ATCC 29906.	El extracto acuoso de <i>Vaccinium corymbosum</i> L. (arándano azul) en sus distintas concentraciones del 25%, 50%, 75% y 100% presenta actividad antibacteriana frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 y <i>Proteus mirabilis</i> ATCC 29906.
-¿Cuál será la susceptibilidad antibacteriana del extracto acuoso de <i>Vaccinium corymbosum</i> L. (arándano azul) a una concentración del 25%, 50%, 75% y 100% en comparación con Ciprofloxacino frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 y <i>Proteus mirabilis</i> ATCC 29906?	Evaluar la susceptibilidad antibacteriana de las cepas de <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 y <i>Proteus mirabilis</i> ATCC 29906 frente al extracto acuoso de <i>Vaccinium corymbosum</i> L. (arándano azul) a una concentración del 25%, 50%, 75% y 100% comparados con Ciprofloxacino.	El extracto acuoso de <i>Vaccinium corymbosum</i> L. (arándano azul) en las distintas concentraciones del 25%, 50%, 75% y 100% presenta mejor susceptibilidad antibacteriana frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 y <i>Proteus mirabilis</i> ATCC 29906 en comparación con Ciprofloxacino.
PROCEDIMIENTO PARA COLECTA DE DATOS USANDO LA GUIA DE OBSERVACION:		
<ol style="list-style-type: none"> 1. Recolección de la muestra vegetal 2. Certificación de la especie vegetal 3. Marcha fitoquímica del extracto acuoso de <i>Vaccinium corymbosum</i> L. (arándano azul) 4. Actividad antibacteriana del extracto acuoso de <i>Vaccinium corymbosum</i> L. (arándano azul) 		

ANEXO C: Matriz de operacionalización de variables

Título: Actividad antibacteriana del extracto acuoso de *Vaccinium corymbosum* L. (Arándano azul) frente a *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Proteus mirabilis* ATCC 29906

VARIABLES	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	DIMENSIONES	INDICADORES	ESCALA DE MEDICION	Nº ITEMS	VALOR
<p>VARIABLE INDEPENDIENTE</p> <p>Extracto acuoso de <i>Vaccinium corymbosum</i> L. (arándano azul)</p>	<p>Producto obtenido de someter los frutos frescos de <i>Vaccinium corymbosum</i> L. (arándano azul) a trozado y molienda, seguido de la disolución del material obtenido con agua destilada y posterior filtrado.</p>	<p>Concentración del extracto acuoso del <i>Vaccinium corymbosum</i> L. (arándano azul)</p>	<p>Tamizaje fitoquímico</p> <p>Concentración del extracto acuoso</p>	<p>Presencia de metabolitos secundarios</p> <p>1) Extracto acuoso al 25% 2) Extracto acuoso al 50% 3) Extracto acuoso al 75% 4) Extracto acuoso al 100%</p>	<p>Nominal</p> <p>Continua</p>	<p>1) Antocianinas 2) Flavonoles 3) Compuestos fenólicos 5) Taninos 6) Alcaloides 7) Antraquinonas</p> <p>1) 25% 2) 50% 3) 75% 4) 100%</p>	<p>++++ Abundante +++ Moderado ++ Leve + Escaso</p> <p>Porcentaje</p>
<p>VARIABLE DEPENDIENTE</p> <p>Actividad antibacteriana</p>	<p>Inhibición del crecimiento bacteriano de las bacterias uropatógenas.</p>	<p>La actividad antibacteriana será medida determinando la inhibición del crecimiento de las bacterias uropatógenas.</p>	<p>Microbiológico</p>	<p>Medición de los halos de inhibición</p>	<p>Continua</p>	<p>número de ensayos microbiológicos.</p>	<p>(-) Nula: Diámetro (< 8 mm) (+) Sensible bajo: Diámetro (8 - 14 mm) (++) Medio (muy sensible): Diámetro (14 - 20 mm) (+++) Sumamente sensible: Diámetro (> 20 mm)</p>

ANEXO D: CERTIFICACIÓN TAXONÓMICA



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, las bachilleres SONCCO HUAYLLA, SARITA DAYSHALUZ y QUISPE BAEZ, SOLEDAD, tesisistas 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 cultivada procedente de Ica, donde es conocida con el nombre vulgar de “arándano azul”, la muestra ha sido identificada con el nombre científico de *Vaccinium corymbosum* L. de la familia Ericaceae y Orden Ericales. 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 especie identificada ocupa las siguientes categorías taxonómicas:

Reino: Plantae
División: Angiospermae
Clase: Equisetopsida
Subclase: Magnoliidae
Superorden: Asteranae
Orden: Ericales
Familia: Ericaceae
Género: *Vaccinium*
Especie: *Vaccinium corymbosum* L.

Nombre vulgar: “arándano azul”

Se expide la presente certificación con fines de investigación científica.

Lima, 11 de febrero del 2022



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

ANEXO E. ATCC *Escherichia coli* 25922



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

Specifications Microorganism Name: <i>Escherichia coli</i> Catalog Number: 0335 Lot Number: 335-506** Reference Number: ATCC® 25922™* Passage from Reference: 3		Expiration Date: 2022/3/31 Release Information: Quality Control Technologist: Mary L. Bowman Release Date: 2020/4/8	
Macroscopic Features: 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		Medium: SBAP	
Microscopic Features: Gram negative straight rod		Method: Gram Stain (1)	
ID System: MALDI-TQF (1) See attached ID System results document.		Other Features/ Challenges: Results (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	
 Amanda Kuperus Quality Control Manager 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>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.</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>			
 ACCREDITED REFERENCE MATERIAL PRODUCER CERT #2655-02		(*) 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. (†) These tests are accredited to ISO/IEC 17025.	
 ACCREDITED TESTING CERT #2655-01			

Bruker Daltonik MALDI Biotyper Classification Results



Meaning of Score Values

Range	Interpretation	Symbols	Color
2.00 – 3.00	High-confidence identification	(+++)	green
1.70 – 1.99	Low-confidence identification	(+)	yellow
0.00 – 1.69	No Organism Identification Possible	(-)	red

Meaning of Consistency Categories (A - C)

Category	Interpretation
(A)	High consistency: The best match is a high-confidence identification. The second-best match is (1) a high-confidence identification in which the species is identical to the best match, (2) a low-confidence identification in which the species or genus is identical to the best match, or (3) a non-identification.
(B)	Low consistency: The requirements for high consistency are not met. The best match is a high- or low-confidence identification. The second-best match is (1) a high- or low-confidence identification in which genus is identical to the best match or (2) a non-identification.
(C)	No consistency: The requirements for high or low consistency are not met.

Run Creation Date/Time: 2020-03-27T11:51:17.542 KLH

Applied MSP Library(ies): BDAL, Mycobacteria Library (bead method), Filamentous Fungi Library, Listeria

Sample Name	Sample ID	Organism (best match)	Score Value
C7 (+++) (A)	335-508	Escherichia coli	2.55

Comments:

closely related to Shigella / Escherichia fergusonii and not definitely distinguishable at the moment

ATCC *Proteus mirabilis* 29906



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

Specifications Microorganism Name: <i>Proteus mirabilis</i> Catalog Number: 01215 Lot Number: 1215-07** Reference Number: ATCC® 29906™* Passage from Reference: 2	Expiration Date: 2023/7/31 Release Information: Quality Control Technologist: Alexandra D Quevi Release Date: 2021/8/17
---	--

Performance	
Macroscopic Features: Large, irregular shaped, swarming colonies, grey, consumes plate, glossy appearance	Medium: SBAP
Microscopic Features: Gram negative rods	Method: Gram Stain (1)
ID System: MALDI-TOF (1) See attached ID System results document.	Other Features/ Challenges: Results (1) Oxidase (Kovacs): 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.

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.

Bruker Daltonik MALDI Biotyper Classification Results



Meaning of Score Values

Range	Interpretation	Symbols	Color
2.00 – 3.00	High-confidence identification	(+++)	green
1.70 – 1.99	Low-confidence identification	(+)	yellow
0.00 – 1.69	No Organism Identification Possible	(-)	red

Meaning of Consistency Categories (A - C)

Category	Interpretation
(A)	High consistency: The best match is a high-confidence identification. The second-best match is (1) a high-confidence identification in which the species is identical to the best match, (2) a low-confidence identification in which the species or genus is identical to the best match, or (3) a non-identification.
(B)	Low consistency: The requirements for high consistency are not met. The best match is a high- or low-confidence identification. The second-best match is (1) a high- or low-confidence identification in which genus is identical to the best match or (2) a non-identification.
(C)	No consistency: The requirements for high or low consistency are not met.

Run Creation Date/Time: 2021-08-12T13:09:05.039 adq

Applied MSP Library(ies): BDAL, Mycobacteria Library (bead method), Filamentous Fungi Library

Sample Name	Sample ID	Organism (best match)	Score Value
A11 (+++) (A)	1215-07	Proteus mirabilis	2.50

Comments:

n/a

ANEXO F. EVIDENCIAS FOTOGRÁFICAS DEL TRABAJO DE CAMPO

1. Procesos de obtención del extracto



1.a) Muestra: *Vaccinium corymbosum* L. (arándano azul)



1.b) Lavado con agua potable



1.c) Desinfección con solución de hipoclorito de sodio



1.d) Enjuague con agua estéril



1.e) Escurrido

SECADO



1.f) Trozado de arándanos



1.g) Arándanos sobre placa de vidrio



1.h) Estufa a 40°C

1.i) PROCESO DE MOLIENDA

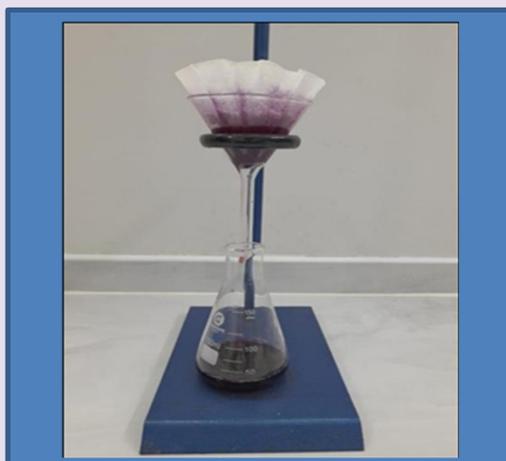


La muestra una vez seca, fue sometida a tritución mecánica empleando un mortero y pilón de porcelana, con la finalidad de reducir el tamaño de partículas y aumentar el número de las mismas para de esta manera hacer más eficiente el proceso de extracción al incrementar la superficie de contacto.

1.j) EXTRACCIÓN

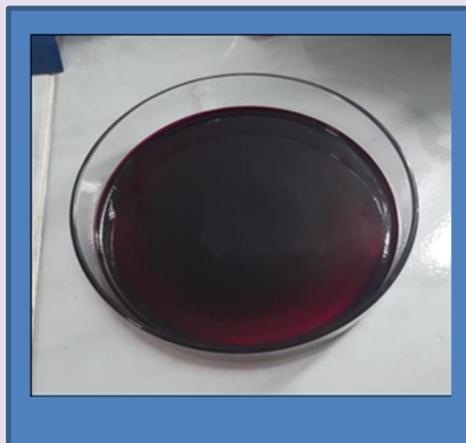
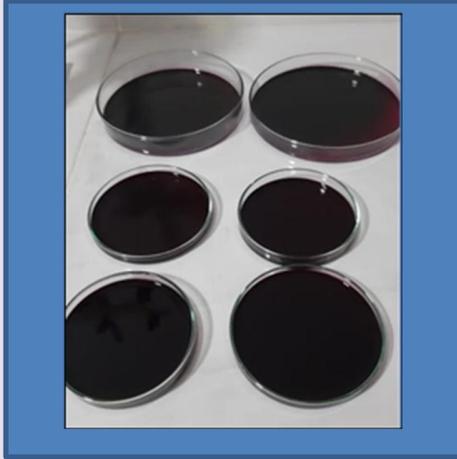


El proceso de extracción se realizó colocando, dentro de un frasco ámbar, el material obtenido luego de la molienda con agua destilada.



Filtrado

1.k) OBTENCIÓN DE LA MELCOCHA



Para facilitar la evaporación del disolvente, el líquido filtrado fue vertido sobre placas petri de vidrio y fue llevado a estufa de aire re circulante a una temperatura de 40°C hasta sequedad.

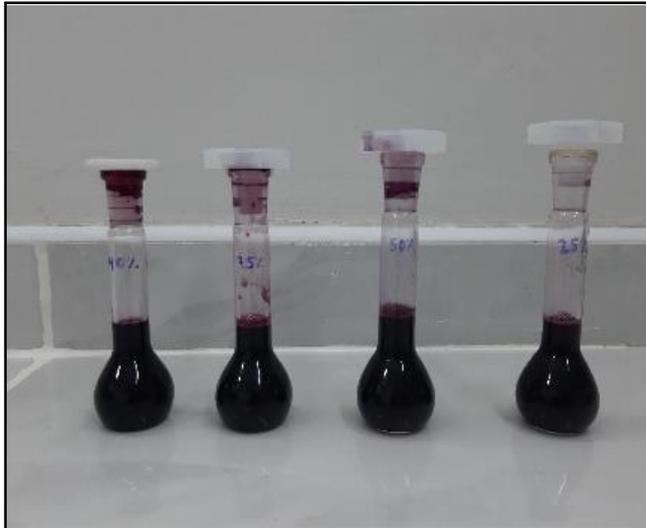


Figura 1L. Concentración del extracto acuoso de *Vaccinium corymbosum* L. (Arándano azul). al 25%, 50%, 75% y 100%.

2. Marcha fitoquímica



Figura 2 A. Reactivos empleados para la marcha fitoquímica.



Figura 2B. Rotulado de los tubos de ensayo para la marcha fitoquímica



Figura 2C. Adición de reactivos para la marcha fitoquímica.



Figura 2D. Resultados de la marcha fitoquímica.

3. Actividad antibacteriana



Figura 3A. Preparación del medio de cultivo agar Mueller Hinton

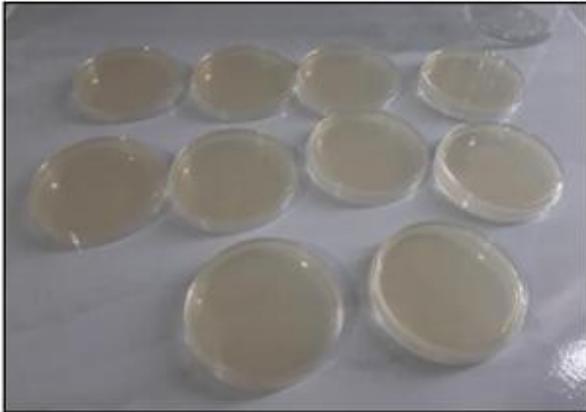
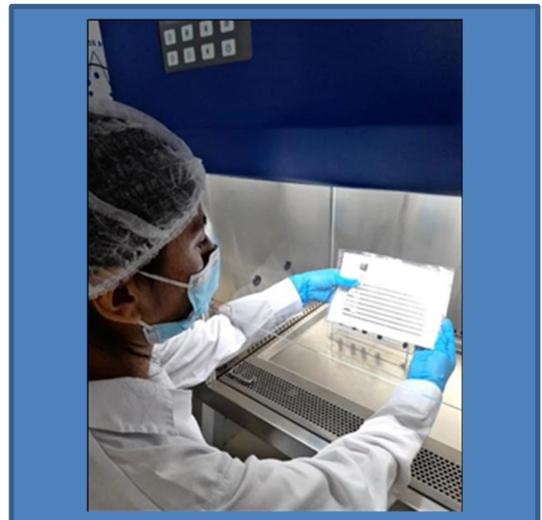
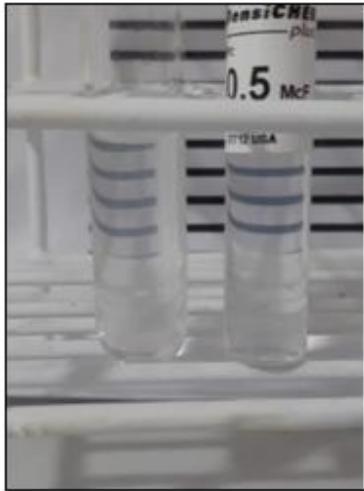


Figura 3B. Colocación del medio de cultivo en placas Petri





Proteus mirabilis ATCC 29906



Escherichia coli ATCC 25922

Figura 3C: Ajuste turbidez comparándola de manera visual con la turbidez del estándar 0.5 de Mc. Farland.

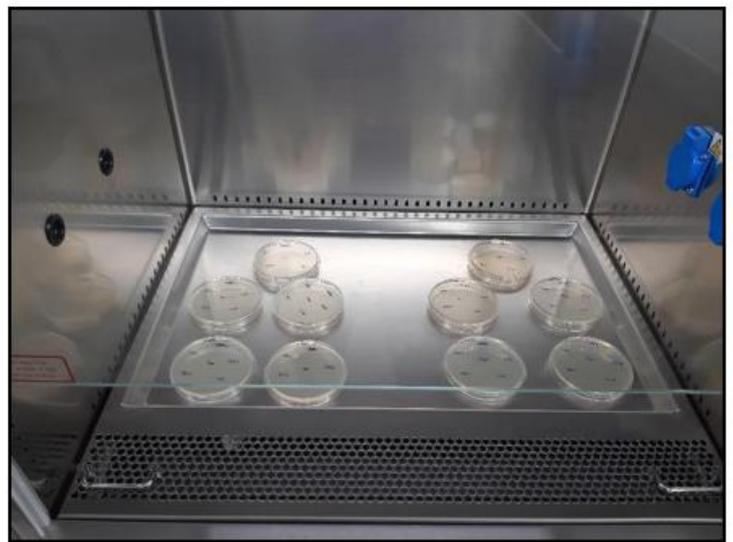


Figura 3D: Inoculación de placas y llevadas a la estufa



Figura 3E. Rotulado de las Placas de Agar Mueller Hinton

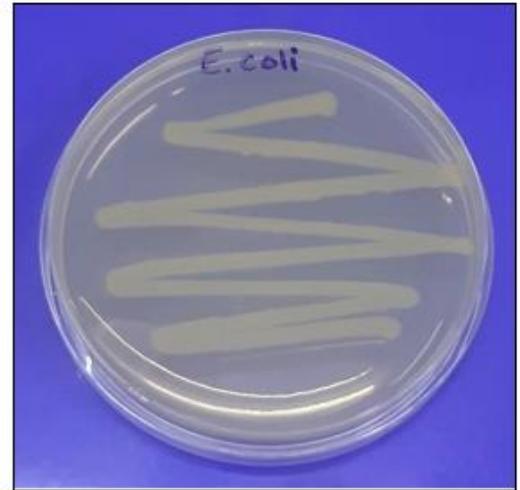


Figura 3F. Siembra de las cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Proteus mirabilis* ATCC 29906 en las placas de Agar Mueller Hinton.

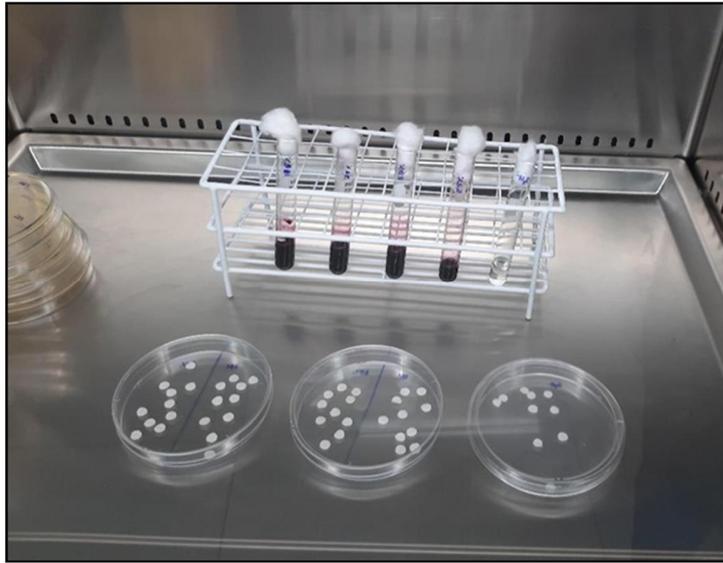


Figura 3G: Preparación de discos de sensibilidad, con extracto de arándanos al 25%, 50%, 75% y 100%; discos embebidos con agua destilada y discos de ciprofloxacino 500mg

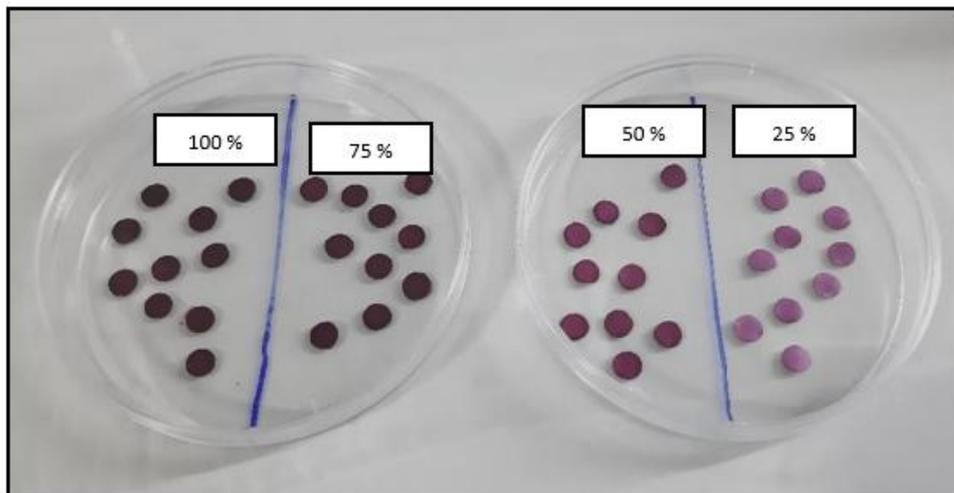


Figura 3H: Preparación de discos de sensibilidad, con extracto de arándanos al 25%, 50%, 75% y 100%



Figura 3H: Incubación de placas inoculadas 24 horas en posición invertida a 37°C dentro de los 15 minutos siguientes a la aplicación de los discos.

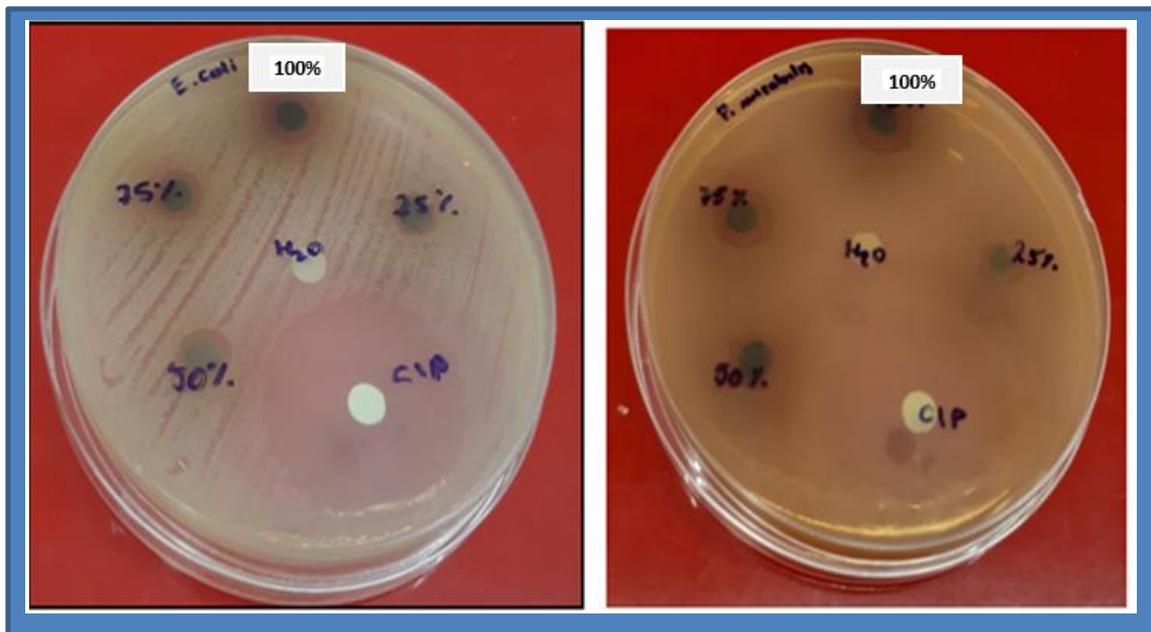


Figura 3I: Lectura de resultados de los halos de inhibición obtenidos del extracto acuoso de *Vaccinium corymbosum* L. (Arándano azul). al 25%, 50%, 75% y 100%, frente a cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Proteus mirabilis* ATCC 29906