

## AUTORIZACIÓN Y DECLARACIÓN JURADA DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD

Yo, BANDA DIAZ MIRTHA GUIOMAR, con DNI 46860255, en mi condición de autor(a) de la tesis/ trabajo de investigación/ trabajo académico presentada para optar el Título Profesional de "Químico Farmacéutico", AUTORIZO a la Universidad María Auxiliadora (UMA) para reproducir y 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<sup>1</sup> que dicho documento es ORIGINAL con un porcentaje de similitud de 12 % y que se han respetado los derechos de autor en la elaboración del mismo. Además, recalcar que se está entregando 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 22 días del mes de diciembre del año 2022.



---

BANDA DIAZ MIRTHA GUIOMAR  
DNI: 46860255



---

Mg. ROSA CANDELARIA RAMÍREZ HEREDIA  
DNI: 09033946

---

<sup>1</sup> Se emite la presente declaración en virtud de lo dispuesto en el artículo 8°, numeral 8.2, tercer párrafo, del Reglamento del Registro Nacional de Trabajos conducentes a Grados y Títulos – RENATI, aprobado mediante Resolución de Consejo Directivo N° 033-2016-SUNEDU/CD, modificado por Resolución de Consejo Directivo N° 174-2019-SUNEDU/CD y Resolución de Consejo Directivo N° 084-2022-SUNEDU/CD.

## AUTORIZACIÓN Y DECLARACIÓN JURADA DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD

Yo, TINEO FLORES JESSICA, con DNI 76402829, en mi condición de autor(a) de la tesis/ trabajo de investigación/ trabajo académico presentada para optar el Título Profesional de "Químico Farmacéutico", AUTORIZO a la Universidad María Auxiliadora (UMA) para reproducir y 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<sup>2</sup> que dicho documento es ORIGINAL con un porcentaje de similitud de 12 % y que se han respetado los derechos de autor en la elaboración del mismo. Además, recalcar que se está entregando 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 22 días del mes de diciembre del año 2022.



---

TINEO FLORES JESSICA  
DNI: 76402829



---

Mg. ROSA CANDELARIA RAMÍREZ HEREDIA  
DNI: 09033946

---

<sup>2</sup> Se emite la presente declaración en virtud de lo dispuesto en el artículo 8°, numeral 8.2, tercer párrafo, del Reglamento del Registro Nacional de Trabajos conducentes a Grados y Títulos – RENATI, aprobado mediante Resolución de Consejo Directivo N° 033-2016-SUNEDU/CD, modificado por Resolución de Consejo Directivo N° 174-2019-SUNEDU/CD y Resolución de Consejo Directivo N° 084-2022-SUNEDU/CD.

## INFORME DE ORIGINALIDAD - TURNITIN

TESIS\_MIRTHA\_BANDA\_JESSICA\_TINEO\_24-10-22.docx (10.16M)

### TESIS ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA IN VITRO

#### INFORME DE ORIGINALIDAD

12%

INDICE DE SIMILITUD

12%

FUENTES DE INTERNET

1%

PUBLICACIONES

3%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

#### FUENTES PRIMARIAS

1

[repositorio.uoosevelt.edu.pe](http://repositorio.uoosevelt.edu.pe)

Fuente de Internet

8%

2

[repositorio.uma.edu.pe](http://repositorio.uma.edu.pe)

Fuente de Internet

1%

3

[hdl.handle.net](http://hdl.handle.net)

Fuente de Internet

1%

4

[1library.co](http://1library.co)

Fuente de Internet

1%

5

[intra.uigv.edu.pe](http://intra.uigv.edu.pe)

Fuente de Internet

1%

Excluir citas

Activo

Excluir coincidencias < 1%

Excluir bibliografía

Activo



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

**ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA *IN VITRO* DEL EXTRACTO  
HIDROALCOHÓLICO DE LAS HOJAS DE *Chenopodium  
ambrosioides* L. (PAICO) FRENTE A *Escherichia coli*  
ATCC® 25922**

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE QUÍMICO  
FARMACÉUTICO

**AUTORES**

Bach. BANDA DIAZ, MIRTHA GUIOMAR

<https://orcid.org/0000-0002-3247-9306>

Bach. TINEO FLORES, JESSICA

<https://orcid.org/0000-0002-5531-3747>

**ASESOR**

Mg. RAMÍREZ HEREDIA, ROSA CANDELARIA

<https://orcid.org/0000-0001-7675-5969>

LIMA – PERÚ

2022

## **DEDICATORIA**

A mis padres por el apoyo que siempre me brindaron sin ninguna condición, permitiéndome así lograr mis metas trazadas y cumplir mis sueños.

*BANDA DIAZ, MIRTHA GUIOMAR*

A mi madre que con su eterna paciencia, amor, esfuerzo y bendición han permitido instruirme y de esta manera lograr una de mis grandes metas.

A toda mi familia y amigos porque con sus consejos, oraciones y palabras me hicieron una mejor persona y han contribuido con este logro.

*TINEO FLORES, JESSICA*

## **AGRADECIMIENTO**

Agradezco a Dios por permitirme estar en esta prestigiosa universidad, a todos mis maestros por trasmitirme sus conocimientos, a mis compañeros de estudio por nuestras vivencias compartidas y también agradecer a mis padres y hermanos por sus consejos que me permitieron seguir adelante y compartir con ellos este importante logro.

*BANDA DIAZ, MIRTHA GUIOMAR*

Agradezco a Dios por haberme otorgado la vida, la salud y una maravillosa madre quien siempre ha creído en mí, a la vez dándome el ejemplo de superación, humildad y sacrificio.

A las autoridades que conforman esta prestigiosa universidad en especial a nuestra asesora Mg. Rosa Candelaria Ramírez Heredia.

A mis profesores quienes con la gran enseñanza y conocimientos han logrado formarme profesionalmente.

*TINEO FLORES, JESSICA*

# ÍNDICE GENERAL

	<b>Páginas</b>
RESUMEN .....	xi
ABSTRACT.....	xii
I. INTRODUCCIÓN .....	13
II. MATERIALES Y MÉTODOS .....	22
II.1. Enfoque y diseño de la investigación.....	22
II.2. Población, muestra y muestreo .....	22
II.3. Variables de investigación .....	23
II.4. Técnicas e instrumentos para la recolección de datos .....	23
II.5. Plan metodológico para la recolección de datos.....	24
II.6. Procesamiento del análisis estadístico .....	26
II.7. Aspectos éticos.....	264
III. RESULTADOS .....	27
IV. DISCUSIÓN .....	36
4.1. Discusión de resultados.....	36
4.2. Conclusiones .....	39
4.3. Recomendaciones.....	40
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	41

## ÍNDICE DE TABLAS

	<b>Páginas</b>
Tabla 1. Estudio fitoquímico del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Chenopodium ambrosioides</i> L. (Paico) .....	27
Tabla 2. Análisis estadístico: grupos experimentales .....	28
Tabla 3. Análisis estadístico: grupos control .....	28
Tabla 4. Análisis de la normalidad de los datos por grupo.....	30
Tabla 5. Análisis de la homogeneidad de varianzas (Levene) .....	30
Tabla 6. Análisis de la varianza (ANOVA) .....	31
Tabla 7. Análisis por subgrupos homogéneos .....	31
Tabla 8. Análisis de la varianza (ANOVA) .....	32
Tabla 9. Análisis por sub grupos homogéneos .....	33
Tabla 10. Análisis de la varianza (ANOVA).....	34
Tabla 11. Análisis por sub grupos homogéneos .....	34
Tabla 12. Evaluación de la sensibilidad antibacteriana de <i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922 mediante Duraffourd .....	35



## ÍNDICE DE FIGURAS

### Páginas

Figura 1. Efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de <i>Chenopodium ambrosioides</i> L. (Paico) al 50%, 75% y 100% y grupos control frente a <i>Escherichia coli</i> .....	29
Figura 2. Recolección de la planta.....	53
Figura 3. Extracción de las hojas y selección de la muestra.....	54
Figura 4. Lavado, desinfección y secado a temperatura ambiente de las hojas ....	55
Figura 5. Secado y deshidratación en estufa de las hojas de paico .....	56
Figura 6. Pulverizado de las hojas de paico .....	57
Figura 7. Maceración del pulverizado de las hojas de paico.....	58
Figura 8. Filtración y evaporación del solvente .....	58
Figura 9. Obtención del extracto seco de la especie vegetal .....	59
Figura 10. Marcha fitoquímica.....	60
Figura 11. Activación de la cepa .....	61
Figura 12. Preparación del cultivo bacteriano .....	62
Figura 13. Sembrado del cultivo en placa.....	63
Figura 14. Preparación de pozos en agar e identificación .....	64
Figura 15. Aplicación del extracto de paico a diferentes concentraciones sobre agar .....	65
Figura 16. Recolección de datos de la ciprofloxacina .....	66
Figura 17. Recolección de datos de los extractos de Paico.....	66

## ÍNDICE DE ANEXOS

### Páginas

Anexo 1. Instrumento de recolección de datos del estudio fitoquímico del extracto. .....	46
Anexo 2. Instrumento de recolección de datos de la actividad antibacteriana.....	47
Anexo 3. Matriz de consistencia .....	48
Anexo 4. Operacionalización de las variables.....	49
Anexo 5. Certificado botánico .....	50
Anexo 6. Certificado ATCC® de análisis de <i>Escherichia coli</i> .....	51
Anexo 7. Evidencias del trabajo realizado .....	53

## RESUMEN

**Objetivo:** Determinar la actividad antibacteriana *in vitro* del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Chenopodium ambrosioides* L. (Paico) frente a *Escherichia coli* ATCC® 25922.

**Método:** El método se basó en un enfoque cuantitativo, prospectivo, transversal con diseño experimental, la población estuvo conformada por *Chenopodium ambrosioides* L. (Paico) la cual fue recolectada de una zona del distrito de San Juan de Cutervo - Cajamarca, empleando una muestra de 3 kilos de hojas para el extracto hidroalcohólico obtenido por medio de la técnica de maceración y la actividad antibacteriana *in vitro* frente a *Escherichia coli* ATCC® 25922 se determinó mediante la técnica de difusión en pozos.

**Resultados:** El estudio fitoquímico reveló la presencia de compuestos fenólicos (+++), quinonas (++) , triterpenos (++) y alcaloides (+). Los halos de inhibición que demuestran la actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico fueron de  $13,13 \pm 0,26$  mm al 100%, de  $12,62 \pm 0,32$  mm al 75% y de  $11,11 \pm 0,28$  mm al 50%; para el control positivo (ciprofloxacino) fue de  $26,63 \pm 0,26$  mm; del mismo modo para el control negativo (etanol 70°) fue de  $6,22 \pm 0,29$  mm.

**Conclusión:** El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Chenopodium ambrosioides* L. (Paico) presenta actividad antibacteriana frente a *Escherichia coli*, a diferentes concentraciones, el ciprofloxacino presentó mayor halo en comparación con el extracto.

**Palabras clave:** *Escherichia coli*, *Chenopodium ambrosioides*, antibacteriano.

## ABSTRACT

**Objective:** To determine the in vitro antibacterial activity of the hydroalcoholic extract of the leaves of *Chenopodium ambrosioides* L. (Paico) against *Escherichia coli* ATCC® 25922.

**Method:** The method was based on a quantitative, prospective, cross-sectional approach with an experimental design, the population was made up of *Chenopodium ambrosioides* L. (Paico) which was collected from an area of the district of San Juan de Cutervo - Cajamarca, using a sample of 3 kilos of leaves for the hydroalcoholic extract obtained by means of the maceration technique and the in vitro antibacterial activity against *Escherichia coli* ATCC® 25922 was determined by means of the diffusion technique in wells.

**Results:** The phytochemical study revealed the presence of phenolic compounds (+++), quinones (++) , triterpenes (++) and alkaloids (+). The inhibition halos that demonstrate the antibacterial activity of the hydroalcoholic extract were 13.13±0.26mm at 100%, 12.62±0.32mm at 75% and 11.11±0.28mm at 50%; for the positive control (ciprofloxacin) it was 26.63±0.26mm; in the same way for the negative control (70° ethanol) it was 6.22±0.29mm.

**Conclusion:** The hydroalcoholic extract of the leaves of *Chenopodium ambrosioides* L. (Paico) has antibacterial activity against *Escherichia coli*, at different concentrations, ciprofloxacin had a higher halo compared to the extract.

**Keywords:** *Escherichia coli*, *Chenopodium ambrosioides*, antibacterial.

## I. INTRODUCCIÓN

Dentro de las enfermedades que adolece el ser humano las causadas por microorganismos, definitivamente se consideran uno de los problemas de salud de mayor dificultad a la hora del tratamiento, estos microorganismos pueden ser bacterias, hongos, virus y parásitos, las cuales se encuentran distribuidas por todo el mundo<sup>1</sup>.

Microorganismos patógenos como la bacteria *Escherichia coli*, es considerada como la causa más común en infecciones en el hombre, a pesar que la mayoría de estas especies o variedades pueden resultar ser inofensivas, otras causan grandes complicaciones en la salud, la sintomatología que produce este tipo de bacteria va desde aumento de temperatura, cólicos, emesis, inclusive diarrea con sangre siendo la forma de contagio principal a través de los alimentos, lo que la hace altamente infectiva.<sup>2</sup>

Las instituciones internacionales de salud como la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) han registrado según los datos de los estudios realizados en 21 naciones a nivel mundial que la infección producida por este tipo de bacteria se estima en 0.6 casos por cada cien mil personas al año en los países del continente africano, sin embargo esta cifra varía de país a país, observando que en los países del mediterráneo la cifra se mantiene en 136 casos por 100,000 habitantes por año.<sup>3</sup>

Los brotes de infecciones por este tipo de microorganismos siempre han sido una causa importante de morbilidad y mortalidad en todo el mundo y es una de las principales causas de muerte por enfermedades intestinales infecciosas entre niños pequeños en países de ingresos bajos y medianos. Asimismo, este patógeno causa un déficit económico en la población, por ejemplo, en el 2011 uno de los brotes más trascendentales de *E. coli* dejó 53 muertes y en Alemania produjo pérdidas económicas de hasta 1.3 millones de dólares.<sup>4</sup>

*Escherichia coli* es sin lugar a dudas el principal agente etiológico causante de infecciones diarreicas, principalmente en niños con un índice de 0.8 y 2 millones de muertes en niños que no sobrepasan los 5 años de edad, según cifras registradas por países latinoamericanos.<sup>5</sup>

Además en las últimas décadas, el uso generalizado, indiscriminado y, en muchos casos, irresponsable, de los antibióticos, ha traído consigo un aumento marcado de las resistencias de los microorganismos a los principales antimicrobianos, lo que supone un importante problema para el tratamiento de las infecciones en nuestro país, tal es el caso, que en un estudio de cohorte realizado en Moyobamba y Urubamba registró un crecimiento de resistencia para el ácido nalidíxico y cotrimoxazol de 11.6% y 6.4% respectivamente.<sup>6</sup>

Así mismo, una investigación realizada en un hospital importante del Perú, reporta que *E. coli* diarreogénica es un agente importante y frecuente en las diarreas producidas en niños.<sup>7</sup> Sin duda, esta bacteria genera una gran problemática en el sector salud a nivel mundial y local, además de la resistencia, se está produciendo, razón por la cual es necesario la búsqueda de alternativas de tratamiento sobre todo que no incremente el problema de la resistencia bacteriana, en tal sentido, se ha tomado en consideración a *Ch. ambrosioides* (Paico) ya que mediante estudios existen reportes de su beneficio en el campo de la salud.

El presente estudio se relaciona con el siguiente marco teórico; *Chenopodium ambrosioides* L. (Paico) es una especie vegetal la cual tiene un crecimiento anual y perenne, llega a medir de 1 m a 0,7 m. Los productos que se obtienen de la semilla y las flores pueden ser altamente tóxicas; el consumo en exceso puede causar mareos, vómitos, convulsiones e incluso la muerte. El consumo de esta planta también puede causar dermatitis u otras reacciones alérgicas. Las hojas y semillas de todos los miembros de este género son relativamente comestibles; sin embargo, muchas de las especies de este género contienen saponinas, aunque generalmente en cantidades demasiado pequeñas para hacer daño. Aunque las saponinas son tóxicas, son mal absorbidas por el cuerpo y la mayoría son eliminadas sin causar ningún problema, además también se descomponen en gran medida en el proceso de cocción.<sup>8</sup> Ciertos estudios realizados sobre *Chenopodium ambrosioides* demostraron la presencia de metabolitos secundarios como hexosas, aminoácidos, fenoles, esteroides, monoterpenoides y terpenoides, carotenoides ( $\alpha$ -caroteno y  $\beta$ -caroteno).<sup>9</sup>

Entre los metabolitos secundarios de *Chenopodium ambrosioides* se tiene a los compuestos fenólicos de los cuales se encontró treinta y cinco compuestos, ocho

eran ácidos fenólicos (derivados del ácido hidroxicinámico), cinco compuestos eran derivados del ácido p-cumárico, los otros tres fueron identificados como derivados del ácido ferúlico, el resto de compuestos fenólicos son flavonas y flavonoles, siendo la mayoría derivados de la quercetina y el kaempferol. Los flavonoides fueron los compuestos fenólicos más abundantes (quercetina 46,98% y kaempferol 45,91%), seguidos de los ácidos fenólicos (6,58%).<sup>10</sup>

Los metabolitos secundarios son sustancias producidas por las plantas que las hacen necesarias en su propio entorno, estas pequeñas moléculas ejercen una amplia gama de efectos sobre la propia planta y sobre otros organismos vivos, entre estos, inducen la floración, la protección, mantienen el crecimiento perenne o señalan el comportamiento caducifolio. Actúan como antimicrobianos y desempeñan el papel de atrayentes o, por el contrario, como repelentes, se han descubierto más de 50.000 metabolitos secundarios en el reino vegetal; las hierbas medicinales y muchas medicinas modernas dependen de los metabolitos secundarios de las plantas para producir su acción. La búsqueda de nuevos metabolitos secundarios en plantas con la esperanza de descubrir nuevos productos o, mejor aún, nuevos enfoques para el tratamiento de enfermedades, es un proceso continuo que involucra a instituciones académicas y farmacéuticas.<sup>1</sup>

Por otro lado, la actividad antibacteriana de una molécula está completamente asociada con los compuestos que matan bacterias o disminuyen su tasa de crecimiento, sin ser ampliamente tóxicos para los tejidos cercanos. Los agentes antimicrobianos descubiertos más recientemente son compuestos naturales modificados y esta modificación se realiza de manera química en su estructura, por ejemplo, b-lactámicos, carbapenems o cefalosporina, productos naturales puros, como los aminoglucósidos, y otros antibióticos totalmente sintéticos, por ejemplo, las sulfonamidas, también se utilizan con frecuencia. Los agentes antimicrobianos podrían clasificarse como los agentes que pueden ser bactericidas, que matan las bacterias, o bacteriostáticos, que disminuyen el crecimiento de las bacterias. Los agentes antibacterianos son los más importantes en la lucha contra las enfermedades infecciosas; pero, con su amplio uso y abuso, ha provocado la aparición de resistencia bacteriana hacia los agentes antibacterianos, esto se ha convertido en un problema importante

para la industria farmacéutica actual.<sup>2</sup>

Así mismo, *Escherichia coli* presenta la forma cilíndrica alargada, es Gram negativo, su secuencia de ADN presenta doble hebra circular de más de 4 millones de pares de bases que siguen una secuencia ordenada. Su replicación es rápida a 37°C, cada 20 minutos, lo que facilita la multiplicación del ADN o de la proteína de interés, esta bacteria se aloja de forma habitual a nivel intestinal en los mamíferos, incluidos los humanos. Existen variedades de esta cepa, algunos de ellas suelen ser patógenas y pueden causar infecciones intestinales, infecciones del tracto urinario o genital.<sup>1</sup>

*Escherichia coli* se considera un germen indicador de contaminación fecal del agua potable, el agua de baño y los alimentos, por tal motivo, es de gran importancia no solo como germen indicador, sino sobre todo como patógeno. Es el patógeno más común aislado en materiales de examen patológico.<sup>2</sup>

Factores de patogenicidad:

*Escherichia coli* tiene varios factores de patogenicidad:

- Cápsula.
- Haftpili.
- Lipopolisacárido como endotoxina.
- Exotoxinas.

Microbiológicamente se distinguen tres grupos de serotipos: antígenos O, antígenos H y antígenos K. "O" se refiere a las fracciones de oligosacáridos de los lipopolisacáridos de la envoltura celular bacteriana, "H" para los flagelos y "K" para la cápsula. Existen alrededor de 180 serogrupos "O", 56 tipos "H" y alrededor de 80 antígenos K diferentes en *Escherichia coli*.<sup>3</sup>

### Formas

- ***Escherichia coli* patógena opcional:** Las cepas de *Escherichia coli* pertenecientes a la flora intestinal residente son opcionalmente patógenas. Pueden convertirse en agentes causantes de infecciones del tracto urinario (alto riesgo de autoinoculación en mujeres), infecciones de heridas, neumonía, peritonitis y colecistitis, así como meningitis infantil (cepa de *Escherichia coli* de cápsula tipo 1).



● ***Escherichia coli* Enterotóxico (ETEC)** causa enfermedades como:

- Diarrea libre de leucocitos.
- Diarrea del viajero.

ETEC produce una toxina termolábil y estable al calor, con el lábil térmico similar a la toxina del cólera y estable al calor a la toxina de la tos ferina. La toxina lábil térmica consta de dos subunidades, unidad A y B. La unidad B se une a una membrana celular, después de lo cual la unidad A se hunde en la célula y actúa como una enzima en ella. La ribosilación de la proteína inhibidora conduce a la desinhibición de la adenilato ciclasa y a un aumento del AMPc. Como resultado, la diarrea acuosa es causada por una emisión de agua e iones de las células. Como terapia, una gran cantidad de bebida (jugos de frutas, soluciones de rehidratación) está en primer plano, ya que la pérdida de electrolitos debe compensarse.

● ***Escherichia coli* enteropatógena (EPEC)**. Este patógeno causa principalmente dispepsia y diarrea en la infancia. Con la ayuda del "factor de adhesión" (EAF), el patógeno puede adherirse a las células epiteliales del intestino delgado e inyectar moléculas tóxicas en los enterocitos a través de un sistema de secreción tipo III. La terapia para una enfermedad causada por EPEC también consiste en la rehidratación y, si es necesario, compensar la pérdida de electrolitos.

● ***Escherichia coli* Enteroinvasivo (EIEC)** es el tercer grupo de *Escherichia coli* patógena. Causan heces mucosas sanguinolentas y ricas en leucocitos. Patogénicamente, hay una invasión de los epitelios intestinales. Como característica especial se puede entender la salida de las vesículas de fagocitosis (escape endosómico). A diferencia de ETEC, EIEC experimenta fiebre después de la infección.

● ***Escherichia coli* enterohemorrágica (EHEC )**. Causa diarrea sanguinolenta y puede conducir a complicaciones graves, posiblemente letales. EHEC forma la toxina Shiga, también conocida como verotoxina, esto tiene un efecto intracelular y hace que toda la célula epitelial muera.

● ***Escherichia coli* enteroagregativa (EAEC )**. EAEC es otro subtipo que puede conducir a diarrea acuosa, aguda o crónica, acuosa - mucosa. Estimula la producción de moco con la ayuda de la adherencia fimbria.

- ***Escherichia coli* adherente difusa (DAEC)**, también desencadena una infección intestinal. Este patógeno conduce a la diarrea, especialmente en niños entre 18 meses y cinco años de edad.<sup>4,5</sup>

Las cepas bacterianas son cultivadas en laboratorios especializados a las que se les denomina como CEPAS ATCC y son herramientas indispensables para el control de calidad en los laboratorios microbiológicos, son microorganismos certificados utilizados en diferentes disciplinas, para el control de calidad en microbiología, estas tienen como objetivo garantizar la trazabilidad de sus resultados, deben utilizar cepas de referencia de microorganismos, obtenidos directamente de una colección nacional o internacional reconocida.

La ciprofloxacina se usa para tratar o prevenir ciertas infecciones causadas por bacterias como la neumonía; gonorrea (una enfermedad de transmisión sexual); fiebre tifoidea (una infección grave que es común en los países en desarrollo); diarrea infecciosa (infecciones que causan diarrea severa); e infecciones de la piel, los huesos, las articulaciones, el abdomen (área del estómago) y la próstata (glándula reproductiva masculina), la ciprofloxacina también se usa para tratar o prevenir la peste (una infección grave que puede propagarse a propósito como parte de un ataque bioterrorista) y el ántrax por inhalación (una infección grave que puede propagarse por gérmenes de ántrax en el aire a propósito como parte de un ataque bioterrorista). La ciprofloxacina también se puede usar para tratar bronquitis, infecciones sinusales o infecciones del tracto urinario, pero no debe usarse para bronquitis e infecciones sinusales, o ciertos tipos de infecciones del tracto urinario si hay otras opciones de tratamiento. Las tabletas de ciprofloxacina de liberación prolongada (acción prolongada) se usan para tratar infecciones renales y del tracto urinario; sin embargo, algunos tipos de infecciones del tracto urinario solo deben tratarse con tabletas de liberación prolongada de ciprofloxacina si no hay otras opciones de tratamiento disponibles. La ciprofloxacina pertenece a una clase de antibióticos llamados fluoroquinolonas. Funciona matando las bacterias que causan infecciones. El ciprofloxacino, es considerada un referente a la hora de comparar nuevas fluoroquinolonas, comparte con estos agentes un mecanismo de acción común: la inhibición de la ADN girasa, el ciprofloxacino demostró una actividad bastante buena contra las bacterias grampositivas, es contra los organismos gramnegativos como

*Escherichia coli*, que demostró ser más potente que otras fluoroquinolonas.<sup>3</sup>

Entre los antecedentes internacionales del estudio podemos citar a Santiago J. et al (2016), en su estudio realizado en Brasil, mediante su investigación “Aceite esencial de *Chenopodium ambrosioides* L., estructuras secretoras, actividades antibacterianas y antioxidantes” tuvo por objetivo, evaluar las actividades antibacterianas y antioxidantes del aceite esencial de *Chenopodium ambrosioides* L., y determinar sus estructuras secretoras. Los resultados del estudio mostraron que la actividad antioxidante demostrada por la prueba linoleica de  $\beta$ -caroteno/ácido, con CI 50 =455,7 $\mu$ g/ml. Este aceite también presentó actividad antibacteriana tanto para bacterias Gram negativas y positivas. La CMI varió de 62,5 a 250 $\mu$ L/mL. Se observó la presencia de terpenos en los tricomas glandulares, lo que sugiere que el aceite esencial es secretado por estas estructuras.<sup>14</sup>

Ajaib M, Hussain T, Farooq S, Ashiq M (2016), en su investigación realizada en Pakistan, titulada “Análisis de las actividades antimicrobianas y antioxidantes de *Ch. ambrosioides*: una planta etnomedicinal” se evaluó la actividad en la corteza y fruto por diferentes técnicas analíticas. Los resultados encontrados en el estudio fueron, ambas partes mostraron resultados antimicrobianos y antioxidantes satisfactorios. El máximo potencial antibacteriano es exhibido por la corteza macerada en éter de petróleo contra *Bacillus subtilis* y el máximo potencial antifúngico exhibido por extractos de metanol de la fruta contra *Aspergillus niger* (mm). Los extractos acuosos no mostraron ninguna actividad contra organismos seleccionados. El valor mínimo (significativo) de MIC exhibido por el extracto de fruta contra *Staphylococcus aureus* fue de 0,7 mg/ml, los extractos metanólicos exhibieron actividad frente a los microorganismos estudiados. Los extractos acuosos de corteza y fruta exhibieron el máximo potencial antioxidante en todos los ensayos, excepto en el ensayo DPPH. El extracto de corteza de éter de petróleo mostró un valor máximo de % DPPH.<sup>15</sup>

Althobaiti F (2020), en su investigación “Evaluación del extracto de hoja de *Chenopodium Ambrosioides* de la región de Taif, Arabia Saudita, sobre antimicroorganismos y la evaluación de su diversidad genética utilizando el ensayo RAMP” cuyo objetivo fue “evaluar el efecto antimicrobiano del extracto

metanólico de *Ch. Ambrosioides*, frente a hongos, bacterias Gram (+) y Gram (-) como *P. vulgaris* y *E. coli*". Los resultados del estudio mostraron halos de inhibición promedio al aplicar el método de difusión en pozo de 10mm para *P. vulgaris* y para *E. coli* halo de 15mm.<sup>16</sup>

Tchani G. et al (2021), en su publicación "Estudio Fitoquímico y Actividad Antioxidante Comparativa de Extractos de Partes Aéreas de *Chenopodium ambrosioides* Linn". El objetivo del estudio se basó en la identificación de compuestos fitoquímicos (por coloración y precipitación) y su capacidad antioxidante de los extractos acuosos y etanólicos de las hojas y semillas de *Chenopodium ambrosioides*. Las pruebas del tamizaje fitoquímico en ambos extractos revelaron la presencia de flavonoides, taninos, terpenoides, terpenos y en el extracto acuoso se encontró alcaloides; el método DPPH indicó que el extracto acuoso posee más capacidad antioxidante que el extracto etanólico.<sup>17</sup>

En relación a los antecedentes nacionales contamos con el estudio de Sanchez S. et al (2016), quienes desarrollaron un estudio *in vitro* mediante la formulación de un extracto hidroalcohólico de las hojas de *Chenopodium ambrosioides* (paico) y mediante la técnica microbiológica de macrodilución en caldo. El objetivo fue determinar su efecto frente a cepas de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, en la ciudad de Iquitos. A través, de la técnica microbiológica se afirmó que el extracto de paico presentó una concentración mínima inhibitoria alta para *Staphylococcus aureus* ATCC® 25923 y para *Escherichia coli* ATCC® 25922 fue media, por lo tanto, se consideró que existe efecto antibacteriano del extracto de paico contra *Staphylococcus aureus*.<sup>18</sup>

Izquierdo, H (2016) en su investigación *in vitro*, determinaron la eficacia antibacteriana del extracto etanólico de *Chenopodium ambrosioides* L. "paico" y el extracto de *Pimpinella anisum* L. "anís", el cual se comparó con ciprofloxacina sobre una cepa de *Escherichia coli*. Los resultados evidenciaron que ambos extractos presentan eficacia antibacteriana sobre *Escherichia coli* presentando en el rango de resistente para la sensibilidad antibacteriana con diámetro de halo menor a 15 mm.<sup>19</sup>

Guzmán E. et al (2021) en su investigación titulada "Efecto antibacteriano *in vitro*

del extracto etanólico de las hojas de *Chenopodium ambrosioides* L. "Paico" y *Schinus molle* "Molle" frente a cepas de *Staphylococcus aureus*, 2021" realizaron un estudio fitoquímico y determinó efecto antibacteriano aplicando la técnica de Kirby Bauer, los extractos etanólicos fueron obtenidos mediante maceración. Como resultados en el estudio fitoquímico se observó que *Chenopodium ambrosioides* L. "Paico" presenta flavonoides, compuestos fenólicos, taninos, triterpenos, lactonas y alcaloides, con respecto al efecto antibacteriano del extracto de *Chenopodium ambrosioides* L. "Paico" presentó halo de inhibición de  $8,86 \pm 0,25\text{mm}$ .<sup>20</sup>

El objetivo del estudio planteado es:

Determinar la actividad antibacteriana *in vitro* del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Chenopodium ambrosioides* L. (Paico) frente a *Escherichia coli* ATCC® 25922, con respecto al planteamiento de los objetivos secundarios tenemos:

En tal sentido se plantea la siguiente hipótesis general del estudio: El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Chenopodium ambrosioides* L. (Paico) presenta actividad antibacteriana *in vitro* frente a *Escherichia coli* ATCC® 25922 y el planteamiento de las hipótesis secundarias son.

## II. MATERIALES Y MÉTODOS

### II.1. Enfoque y diseño de la investigación.<sup>21,22</sup>

Cuantitativo: La investigación presentó una orientación cuantitativa, los datos recolectados fueron presentados con datos numéricos o variables cuantificables.

Prospectivo: Los datos en estudio fueron recolectados en el transcurso del tiempo, a futuro, es decir, posterior al planteamiento del mismo.

Transversal: El estudio analizaron las variables durante un solo periodo de tiempo.

Experimental: Debido al manejo científico de las variables donde una de ellas se mantiene constante y experimenta una alteración, existe manipulación deliberada de estas por parte del investigador.<sup>16-18</sup>

### II.2. Población, muestra y muestreo

- Población vegetal:

Compuesta por 6 kilogramos de la especie vegetal *Chenopodium ambrosioides* L. (Paico) la cual fue recolectada de una zona del distrito de San Juan de Cutervo, Provincia de Cutervo, ubicado en el departamento de Cajamarca, según coordenadas geográficas a 6°10'27" de latitud Sur y 78°35'55" longitud Oeste, a una altura 2070 m.s.n.m.

- Muestra vegetal:

Se utilizaron 3 kilogramos de hojas de *Chenopodium ambrosioides* L. (Paico).

Criterios de inclusión: Identificación taxonómica de la especie vegetal en estudio, hojas de similar tamaño, forma y color, extracción directamente de la planta.

Criterios de exclusión: Muestra recolectada de diferente zona geográfica, contaminación de la muestra, presencia de plagas o tratamiento por insecticidas.

- Población bacteriana:

Bacteria de *Escherichia coli*, adquiridas comercialmente del Laboratorio Microbiologics.

- Muestra bacteriana:

Cepas puras de *Escherichia coli* ATCC® 25922, cultivadas en ambiente controlado.

Criterios de inclusión: Cepa ATCC con certificado de análisis, concentración bacteriana de 0.5 en la escala de MacFarland.

Criterios de exclusión: Cepa silvestre, de otra variedad, cepa contaminada.

- Muestreo:

Debido a las facilidades para adquirir la muestra en estudio se aplicó el tipo de muestreo no probabilístico por conveniencia.<sup>23</sup>

### II.3. Variables de investigación

- **Variable independiente:** Extracto hidroalcohólico de las hojas de *Chenopodium ambrosioides* L. (PAICO).

**Definición conceptual:** Sustancia extraída por medios físicos mediante maceración de las hojas de *Chenopodium ambrosioides* L. (PAICO) y que contiene los principios activos.

**Definición operacional:** Maceración de las hojas de *Chenopodium ambrosioides* L. (paico).

- **Variable dependiente:** Actividad antibacteriana *in vitro* sobre *Escherichia coli* ATCC® 25922.

**Definición conceptual:** Proceso de disminución o muerte de la bacteria *Escherichia coli* ATCC® 25922 por medio de un agente antibacteriano.

**Definición operacional:** Aplicación del método de difusión en pozo, con medición de los halos de inhibición.

### II.4. Técnicas e instrumentos para la recolección de datos

#### Técnicas:

**Maceración:** Proceso en el cual participaron dos tipos de componentes, uno líquido el cual es el extrayente y uno sólido que es el componente del cual se extraen los metabolitos secundarios de la planta.<sup>24</sup>

**Difusión en pozo:** Es una técnica modificada de Kirby Bauer, en la cual se

preparó pozos en el cultivo bacteriano en agar, esto permitió determinar la actividad antibacteriana por medio de la acción que ejerce una sustancia sobre una bacteria, mostrado mediante la formación de halo de inhibición.<sup>25</sup>

### **Instrumentos:**

**Ficha de recolección de datos:** Instrumento que sirvió para llevar el registro de los datos de forma ordenada y a la vez sirve como base de datos físico.

## **II.5. Plan metodológico para la recolección de datos**

### **Preparación de los extractos:**

- Se pesaron 3.0 Kg., y se extrajeron las hojas frescas de la planta, las que fueron lavadas con abundante agua.
- Luego fueron desinfectadas en una tina con hipoclorito de sodio al 0,5% por 6 minutos.
- Luego se volvieron a lavar con abundante agua, se dejó escurrir el agua y fueron colocadas sobre papel kraft sobre una mesa para su secado a temperatura ambiente (24°C-27°C) por 48 horas.
- Posteriormente fueron colocadas en una estufa para eliminar cualquier resto de agua, aproximadamente por 6 horas a temperatura de 40°C.
- Transcurrido este tiempo se trozaron manualmente y se colocaron en el molino de cuchillas y se procedió a pulverizar por completo, el polvo obtenido fue tamizado con una malla de 1mm.
- Maceración: El pulverizado obtenido se separó y se colocó en un frasco ámbar de 4 litros, se agregó 1300 ml de etanol 70° y posteriormente se dejó macerar por 10 días con agitación cada 12 horas por 5 minutos.
- Obtención del extracto seco: Luego se llevó a filtrado con papel de filtro



Whatman N° 01 y luego el filtrado se colocó en la estufa a 45°C hasta su completa evaporación, hasta obtener el extracto seco.

#### **Reactivación de la cepa de *Escherichia coli*:**<sup>26,27</sup>

- La cepa fue activada siguiendo los procedimientos consignados en las guías de microbiología para la activación de la cepa, para lo cual el liofilizado reconstituido se aplicó en placas con agar Mac Conkey hisopando toda la superficie de la placa.
- Se llevó a incubación por 24 horas y confirmó el crecimiento de colonias.
- Luego se tomaron dos colonias con un hisopo estéril la cual se disolvió en solución salina fisiológica en un tubo de ensayo.
- Se hicieron diluciones sucesivas hasta alcanzar la concentración bacteriana similar al  $1.5 \times 10^8$  UFC comparado con la escala de Mc Farland.

#### **Sembrado de cultivos bacteriano de *Escherichia coli*:**

- De este último tubo se realizó sembrado en estrías en placas Petri con agar Müller Hinton.
- Luego se prepararon 3 pocitos en placas para los grupos de tratamiento con extracto hidroalcohólico de paico al 100%, 75% y 50%.
- Los grupos control con etanol 70° y ciprofloxacino; se aplicó 30uL de cada extracto y grupos control en los pocitos respectivamente.
- Se llevó a una incubadora por 24 horas a  $36 \pm 1^\circ\text{C}$  para luego visualizar el tamaño de los halos formados en cada placa.

#### **Evaluación del efecto antibacteriano:**

- Se retiraron las placas y se visualizó a tras luz la formación de halo de inhibición.
- Se registraron los datos en la ficha de recolección de datos en milímetros

el diámetro del halo de inhibición.

## **II.6. Procesamiento del análisis estadístico**

El procesamiento de los datos recolectados se realizó por medio del análisis empleando el software estadístico SPSS versión 26, el que permitió realizar un análisis descriptivo de cada grupo de datos, además se aplicó pruebas inferenciales de ANOVA y Tukey, para contrastar la hipótesis del estudio con un nivel de confianza del 95% y 0.05 de significancia.

## **II.7. Aspectos éticos**

El principio ético en el cual se basó el presente trabajo de investigación es el de no maleficencia, por medio del cual se consideraron todas las medidas de bioseguridad para evitar, causar daño a los investigadores y al medio ambiente, por lo tanto, se brindará los EPP (Equipos de Protección Personal) y el material necesario, para evitar los riesgos propios del estudio.

### III. RESULTADOS

**Tabla 1. Estudio fitoquímico del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Chenopodium ambrosioides* L. (Paico)**

Prueba	Identificación	Color / Precipitado	Intensidad
Shinoda	Flavonoides	amarillo	+
Tricloruro férrico	Compuestos fenólicos	Azul violeta	+++
	Taninos	-	-
Dragendor	Alcaloides	Naranja ladrillo	+
Bortanger	Quinonas	rojo	++
Liebermann - Burchard	Triterpenos y esteroides	Anillo verde-azulado	++
Espuma	Saponinas	-	-
Test Mucílago	Mucílago	-	+

Fuente: Elaboración propia

Leyenda:

- Alta : +++
- Media : ++
- Baja : +
- Ausencia : -

#### **Interpretación:**

Tabla 1, se observa la Marcha fitoquímica donde se identificó los metabolitos secundarios encontrados en el extracto de *Chenopodium ambrosioides* L. (Paico); existe alta cantidad (+++) compuestos fenólicos, cantidad media (++) de quinonas y triterpenos; Baja cantidad (+) de alcaloides y mucílago, así mismo se observa Ausencia (-) de taninos y saponinas.

**Tabla 2. Análisis estadístico: grupos experimentales**

		<b>Diámetro del halo de inhibición</b>							
						95% Intervalo de confianza para la media			
		N	Media	Desviación estándar	Error estándar	Límite Superior	Límite Inferior	Mínimo	Máximo
Ext. Paico	100%	10	13,13	0,26	0,07	12,97	13,29	12,83	13,55
Ext. Paico	75%	10	12,62	0,32	0,12	12,35	12,90	11,98	13,20
Ext. Paico	50%	10	11,11	0,28	0,06	10,96	11,26	10,87	11,58

Fuente: Elaboración propia.

### Interpretación:

Tabla 2, se muestra los datos encontrados para la media de halos de inhibición de  $13,13 \pm 0,26$  mm para el extracto de Paico al 100%, de  $12,62 \pm 0,32$  mm para el extracto al 75% y de  $11,11 \pm 0,28$  mm para el extracto al 50%, así mismo, se muestra los estadígrafos con respecto a la desviación, intervalos de confianza, valores máximo y mínimo encontrados.

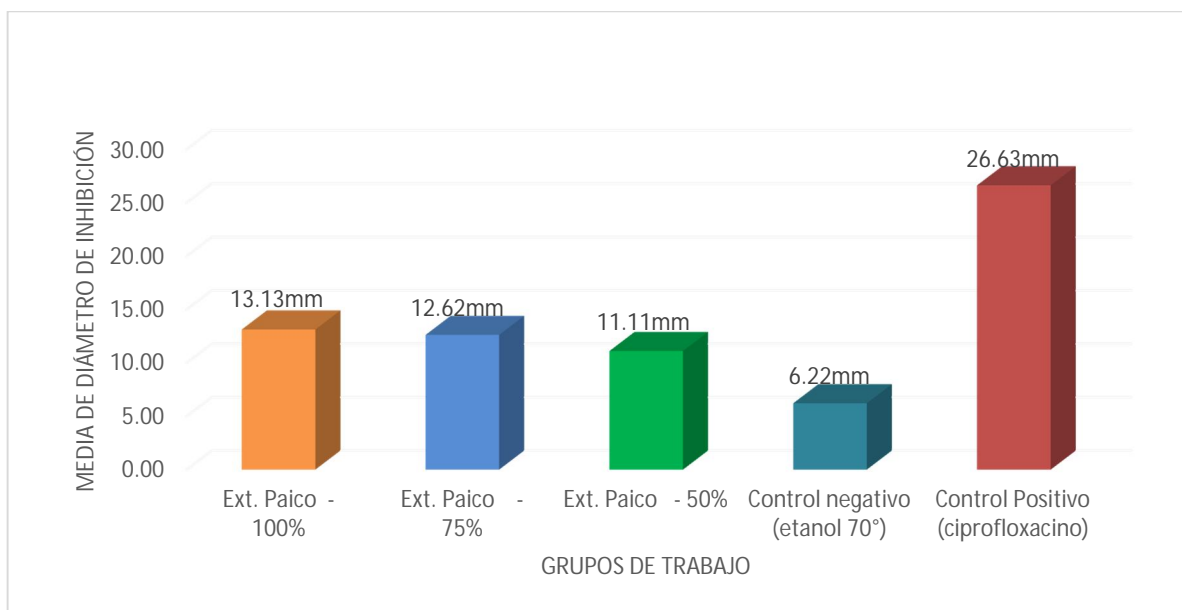
**Tabla 3. Análisis estadístico: grupos control**

		<b>Diámetro del halo de inhibición</b>							
						95% Intervalo de confianza para la media			
		N	Media	Desviación estándar	Error estándar	Límite Superior	Límite Inferior	Mínimo	Máximo
Control negativo (etanol 70°)		10	6,22	0,29	0,19	5,79	6,64	5,26	7,04
Control Positivo (ciprofloxacino)		10	26,63	0,26	0,13	26,33	26,92	26,04	27,47

Fuente: Elaboración propia

### Interpretación:

Tabla 3, observamos los datos encontrados para la media de halos de inhibición de  $26,63 \pm 0,26$  mm para el ciprofloxacino (control positivo) y de  $6,22 \pm 0,29$  mm para el etanol (control negativo), así mismo, se muestra los estadígrafos con respecto a la desviación, intervalos de confianza, valores máximo y mínimo encontrados.



**Figura 1. Efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de *Chenopodium ambrosioides* L. (Paico) al 50%, 75% y 100% y grupos control frente a *Escherichia coli***

Fuente: Elaboración propia

Figura 1, muestra los valores promedio de los halos de inhibición de los grupos experimentales y control, donde se puede apreciar un mayor tamaño de los grupos experimentales con respecto al control negativo, lo que demuestra el efecto antibacteriano por parte de *Chenopodium ambrosioides* L. (Paico) a las concentraciones del 50%, 75% y 100% frente a *Escherichia coli*, por otro lado, se observa que el efecto antibacteriano es superior en el ciprofloxacino (control positivo) comparado con los extractos de paico.

**Tabla 4. Análisis de la normalidad de los datos por grupo**

	Grupos de trabajo	Shapiro-Wilk		
		Estadístico	df	Sig.
Diámetro del halo de inhibición (mm)	Ext. Paico - 100%	0,970	10	0,891
	Ext. Paico - 75%	0,957	10	0,750
	Ext. Paico - 50%	0,839	10	0,142
	Control negativo (etanol 70°)	0,918	10	0,338
	Control Positivo (ciprofloxacino)	0,958	10	0,757

Fuente: Elaboración propia

### Interpretación:

Tabla 4, mediante la prueba de Shapiro-Wilk se logró demostrar al comparar los valores de significancia obtenidos por cada grupo de trabajo con lo aceptado por el estudio (0.05) mediante el software estadístico SPSS ver. 26 que todos los grupos analizados presentan distribución normal en el comportamiento de sus datos recolectados.

**Tabla 5. Análisis de la homogeneidad de varianzas (Levene)**

		Estadístico de			p- valor
		Levene	df1	df2	
Diámetro del halo de inhibición	Basado en la media	2,593	4	45	0,149
	Basado en la mediana	1,927	4	45	0,122
	Basado en la mediana con ajuste de df	1,927	4	28,14	0,133
	Basado en la media recortada	2,581	4	45	0,050

Fuente: Elaboración propia

### Interpretación:

Tabla 5, la prueba de Levene permite hacer un análisis, basado en la media del nivel de desviación que presenta en su distribución los datos recolectados y determinar si esta variación es homogénea o heterogénea, de los valores obtenidos mediante la prueba se observa que todos los parámetros son superiores al valor de significancia del estudio, por lo tanto, se confirma que los grupos de datos presentan varianzas homogéneas.

## CONTRASTACIÓN DE LA HIPÓTESIS GENERAL:

**H<sub>0</sub>:** El extracto hidroalcohólico *Chenopodium ambrosioides* L. (Paico) no presenta actividad antibacteriana *in vitro* frente a *Escherichia coli* ATCC® 25922.

**H<sub>1</sub>:** El extracto hidroalcohólico *Chenopodium ambrosioides* L. (Paico) presenta actividad antibacteriana *in vitro* frente a *Escherichia coli* ATCC® 25922.

### Tabla 6. Análisis de la varianza (ANOVA)

Diámetro del halo de inhibición

	Suma de cuadrados	df	Media al cuadrado	F	p-valor.
Entre grupos	2310,255	4	577,564	3758,892	0,000
Dentro de los grupos	6,914	45	0,154		
Total	2317,169	49			

Fuente: Elaboración propia

### Interpretación:

Tabla 6, el análisis de datos mediante la prueba de ANOVA, permite determinar diferencias significativas en los valores promedios y distribución de los grupos de datos analizados, es decir confirma si los grupos de datos correspondientes a los halos de inhibición presentan valores similares o no, al evaluar el p-valor obtenido del análisis entre los grupos mediante ANOVA se obtuvo un valor de 0,00; por lo que se confirma que existe al menos uno de los grupos

### Tabla 7. Análisis por subgrupos homogéneos

Diámetro de inhibición						
HSD Tukey <sup>a</sup>						
Grupos de trabajo	N	Subconjunto para alfa = 0.05				
		1	2	3	4	5
Control negativo (etanol 70°)	10	6,22				
Ext. Paico - 50%	10		11,11			
Ext. Paico - 75%	10			12,62		
Ext. Paico - 100%	10				13,13	
Control Positivo (ciprofloxacino)	10					26,63
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 = 10,000".

Fuente: Elaboración propia

### Interpretación:

Tabla 7, muestra el análisis de los datos agrupados por subgrupos homogéneos, mediante la prueba de Tukey que permite complementar el análisis de ANOVA y nos muestra los resultados comparativos por grupos y permite comparar el efecto antibacteriano de los extractos hidroalcohólico *Chenopodium ambrosioides* L. (Paico) y grupos control en relación al tamaño del halo de inhibición.

**Decisión:** Aceptar  $H_1$  y rechazar  $H_0$ , por lo tanto, se confirma que el extracto hidroalcohólico *Chenopodium ambrosioides* L. (Paico) presenta actividad antibacteriana *in vitro* frente a *Escherichia coli* ATCC® 25922.

### CONTRASTACIÓN DE LA HIPÓTESIS ESPECÍFICA 2:

**$H_0$ :** El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Chenopodium ambrosioides* L. (Paico) al 50%, 75% y 100% no presenta actividad antibacteriana *in vitro* frente a *Escherichia coli* ATCC® 25922.

**$H_1$ :** El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Chenopodium ambrosioides* L. (Paico) al 50%, 75% y 100% presenta actividad antibacteriana *in vitro* frente a *Escherichia coli* ATCC® 25922.

**Tabla 8. Análisis de la varianza (ANOVA)**

Diámetro del halo de inhibición					
	Suma de cuadrados	df	Media al cuadrado	F	p-valor.
Entre grupos	2310,255	4	577,564	3758,892	0,000
Dentro de los grupos	6,914	45	0,154		
Total	2317,169	49			

Fuente: Elaboración propia

### Interpretación:

Tabla 8, el análisis de datos mediante la prueba de ANOVA, permite determinar diferencias significativas en los valores promedios y distribución de los grupos de los datos de los grupos experimentales con el control negativo, es decir, confirma si los grupos de datos en estudio correspondientes a los halos de inhibición presentan valores similares o no, al evaluar el p-valor obtenido del análisis entre los grupos mediante ANOVA se obtuvo un valor de 0,00; por lo que se confirma que



existe al menos uno de los grupos.

**Tabla 9. Análisis por sub grupos homogéneos**

HSD Tukey <sup>a</sup>					
Grupos de trabajo	N	1	2	3	4
Control negativo (etanol 70°)	10	6,22			
Ext. Paico - 50%	10		11,11		
Ext. Paico - 75%	10			12,62	
Ext. Paico - 100%	10				13,13
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000

Fuente: Elaboración propia

**Interpretación:**

En la tabla 9, se observa la prueba inferencial de Tukey, que permite confirmar las diferencias estadísticamente significativas relacionándolas entre sí, luego del análisis realizado se observa diferente actividad antibacteriana en todos los grupos de datos comparados con el grupo control negativo.

**Decisión:** Rechazar  $H_0$  y aceptar  $H_1$  que confirma que el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Chenopodium ambrosioides* L. (Paico) al 50%, 75% y 100% presenta actividad antibacteriana *in vitro* frente a *Escherichia coli* ATCC® 25922.

**CONTRASTACIÓN DE LA HIPÓTESIS ESPECÍFICA 3:**

$H_0$ : El extracto hidroalcohólico de *Chenopodium ambrosioides* L. (Paico) no presenta mayor actividad antibacteriana *in vitro* que el ciprofloxacino frente a *Escherichia coli* ATCC® 25922.

$H_1$ : El extracto hidroalcohólico de *Chenopodium ambrosioides* L. (Paico) presenta mayor actividad antibacteriana *in vitro* que el ciprofloxacino frente a *Escherichia coli* ATCC® 25922.

**Tabla 10. Análisis de la varianza (ANOVA)**

Diámetro del halo de inhibición					
	Suma de cuadrados	df	Media al cuadrado	F	p-valor.
Entre grupos	2310,255	4	577,564	3758,892	0,000
Dentro de los grupos	6,914	45	0,154		
Total	2317,169	49			

Fuente: Elaboración propia

**Interpretación:**

Tabla 10, el análisis de datos mediante la prueba de ANOVA, permite determinar diferencias significativas en los valores promedios y distribución de los datos de los grupos experimentales con el control positivo, es decir, confirma si los grupos de datos en estudio correspondientes a los halos de inhibición presentan valores similares o no, al evaluar el p-valor obtenido del análisis entre los grupos mediante ANOVA se obtuvo un valor de 0,00; por lo que se confirma que existe al menos uno de los grupos.

**Tabla 11. Análisis por sub grupos homogéneos**

Diámetro de inhibición						
HSD Tukey <sup>a</sup>						
Grupos de trabajo	N	Subconjunto para alfa = 0.05				
		1	2	3	4	5
Ext. Paico - 50%	10	11,11				
Ext. Paico - 75%	10		12,62			
Ext. Paico - 100%	10			13,13		
Control Positivo (ciprofloxacino)	10				26,63	
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 = 10,000.

Fuente: Elaboración propia

**Interpretación:**

Tabla 11, muestra el análisis de los datos agrupados por subgrupos homogéneos, mediante la prueba de Tukey que permite complementar el análisis de ANOVA y nos muestra los resultados comparativos por grupos y permite comparar el efecto antibacteriano de los extractos hidroalcohólico *Chenopodium ambrosioides* L. (Paico) y el grupo control positivo en relación al tamaño del halo de inhibición

mediante la prueba de Tukey, se procedió a confirmar las diferencias estadísticamente significativas relacionándolas entre sí, observando que el grupo control positivo (ciprofloxacino) presenta mayor actividad antibacteriana que los grupos experimentales.

**Decisión:** Aceptar  $H_0$  y rechazar  $H_1$  que confirma que el extracto hidroalcohólico de *Chenopodium ambrosioides* L. (Paico) no presenta mayor actividad antibacteriana *in vitro* que el ciprofloxacino frente a *Escherichia coli* ATCC® 25922.

**Tabla 12. Evaluación de la sensibilidad antibacteriana de *Escherichia coli* ATCC® 25922 mediante Duraffourd**

Tratamiento	Sensibilidad nula $\leq 8$ mm	Sensible 8–14 mm	Muy sensible 14-20 mm	Altamente sensible > 20 mm
Control negativo (etanol 70°)	6,22			
Ext. Paico - 50%		11,11		
Ext. Paico - 75%		12,62		
Ext. Paico - 100%		13,13		
Control Positivo (ciprofloxacino)				26,63

Fuente: Elaboración propia

### Interpretación:

Tabla 12, la escala de Duraffourd permite comparar la sensibilidad de la bacteria *Escherichia coli* ATCC® 25922 a los grupos en estudio (experimentales y control) clasificando esta sensibilidad de la bacteria según el tamaño del halo de inhibición formado, para el caso se observa que *Escherichia coli* presenta sensibilidad nula al grupo control negativo, es sensible al extracto de paico al 50%, 75% y 100% y es altamente sensible al control positivo (ciprofloxacino).

## IV. DISCUSIÓN

### 4.1. Discusión de resultados

Las infecciones bacterianas siempre han sido una problemática en el sector salud, sobre todo con el incremento de la resistencia microbiana en las últimas décadas, esta situación ha llevado a la búsqueda mediante investigaciones de nuevas moléculas o alternativas que permitan detener o disminuir el incremento de la resistencia bacteriana, sobre todo en las bacterias como *Escherichia coli*, que ha demostrado altos índices de resistencia y contagio, en tal sentido, la presente investigación muestra a continuación la discusión de los resultados obtenidos con otros autores, según los objetivos planteados.

Con respecto a los metabolitos secundarios encontrados en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Chenopodium ambrosioides* L. (Paico) se identificó compuestos fenólicos en alta cantidad (+++), quinonas y triterpenos en mediana cantidad (++) y baja cantidad (+) de alcaloides y mucílago; así mismo, los resultados obtenidos por Tchani G. et al (2021), en su estudio fitoquímico realizado a los extractos acuosos y etanólicos de las hojas y semillas de *Chenopodium ambrosioides* identificaron la presencia en ambos extractos de flavonoides, taninos, terpenoides, terpenos y en el extracto acuoso además se encontró alcaloides; ambos estudios coinciden en la presencia de triterpenos y alcaloides por la similitud que presentan los extractos con respecto a los solventes empleados, ya que en nuestro estudio se empleó una mezcla de etanol y agua, por otro lado, no se pudo extraer flavonoides y taninos que son extraídos más fácilmente con etanol puro; similar estudio muestra Guzmán E. et al (2021) en su investigación sobre el estudio fitoquímico del extracto etanólico de *Chenopodium ambrosioides* L. "Paico", donde determinaron la presencia de flavonoides, compuestos fenólicos, taninos, triterpenos, lactonas y alcaloides, al igual que el estudio anterior realizado por Tchani G. et al (2021), estos estudios junto con el nuestro corroboran sus resultados obtenidos, los cuales muestran las propiedades inherentes de la planta (metabolitos) que brindan su potencial actividad antibacteriana.

Con respecto a la determinación de la actividad antibacteriana *in vitro* del extracto hidroalcohólico al 50%, 75% y 100% de las hojas de *Chenopodium ambrosioides* L. (Paico) frente a *Escherichia coli* ATCC® 25922 esta fue evaluada mediante el método de difusión donde se obtuvieron halos de inhibición promedio de 11,11mm; 12,62mm y 13,13mm respectivamente, el control negativo fue de 6,22mm; al comparar los halos de inhibición de los extractos *Chenopodium ambrosioides*, con el grupo control negativo se deduce que el extracto de dicha planta presenta actividad antibacteriana a las concentraciones de estudio, lo que se contrasta al estudio realizado por Sanchez S. et al (2016), donde determinaron de manera similar el efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Chenopodium ambrosioides* (paico) frente a cepas de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, aplicando el método de la concentración mínima inhibitoria (CMI) observando actividad inhibitoria contra esta bacteria, así mismo, Izquierdo, H (2016) evidenció el mismo efecto del extracto sobre *Escherichia coli* encontrando un halo de inhibición promedio de 15 mm para la concentración al 100%, valor que se asemeja a lo encontrado en nuestro estudio; por otro lado, el estudio también realizado por Althobaiti F (2020) sobre la evaluación del extracto de las hojas de *Chenopodium ambrosioides* frente a hongos, bacterias Gram (+) y Gram (-) como *P. vulgaris* y *E. coli* mediante el método de difusión en pozo, mostraron halos de inhibición promedio para estos microorganismos de 10mm para *P. vulgaris* y para *E. coli* halo de 15mm; los resultados encontrados por distintos autores y el nuestro confirman la actividad antibacteriana que presenta *Chenopodium ambrosioides* frente a *Escherichia coli*, mostrando valores similares con respecto a los halos de inhibición formados bajo la misma metodología empleada, del mismo modo, otro estudio que evidenció la actividad antibacteriana de esta planta contra *Escherichia coli* pero en su forma de aceite esencial, fue el realizado por Santiago J. et al (2016), en Brasil quienes evaluaron la actividad antibacteriana del aceite esencial de *Chenopodium ambrosioides* L., demostrando que este posee actividad antibacteriana tanto para bacterias Gram negativas y positivas, para lo cual aplicó el método de Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) la que se encontró entre 62,5 a 250µL/mL en las cepas estudiadas; también Guzmán E. et al (2021) evaluó la actividad antibacteriana del extracto etanólico de

las hojas de *Chenopodium ambrosioides* L. "Paico" observando que este formó un halo de inhibición promedio mediante el método de difusión en disco de  $8,86 \pm 0,25$ mm, de manera general podemos decir que *Chenopodium ambrosioides* presenta actividad antibacteriana a las concentraciones del 100%, 75% y 50% como lo corroboran diferentes estudios en sus extractos etanólicos, acuosos, hidroalcohólicos inclusive su aceite esencial; con respecto a la corteza y fruto también fue evaluada en forma de macerados acuoso y metanólico para determinar su actividad antibacteriana frente a *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* y *Aspergillus niger* (mm) no existiendo ninguna actividad en los extractos acuoso, pero si los extractos metanólicos frente a los microorganismos estudiados.

Por otro lado, al comparar la actividad antibacteriana *in vitro* del extracto hidroalcohólico de *Chenopodium ambrosioides* L. (Paico) con ciprofloxacino frente a *Escherichia coli* ATCC® 25922 mediante el análisis estadístico de los datos obtenidos se confirmó que el ciprofloxacino presenta mayor actividad antibacteriana *in vitro* que el extracto hidroalcohólico de *Chenopodium ambrosioides* L. (Paico) a diferentes concentraciones frente a *Escherichia coli* ATCC® 25922; así mismo, aplicando la escala de Duraffourd donde se evaluó la sensibilidad antibacteriana que presenta *Escherichia coli* a los extractos hidroalcohólicos de *Chenopodium ambrosioides* L. (Paico), se puede apreciar que *Escherichia coli* es altamente sensible al control positivo (ciprofloxacino) y es sensible al extracto de paico al 50%, 75% y 100%, confirmando del mismo modo, que ciprofloxacino tiene mayor efecto que los extractos de *Chenopodium ambrosioides*, estos resultados también fueron confirmados por Izquierdo (2016) en su investigación sobre la misma planta, cabe mencionar que ciprofloxacino es una molécula sintética de una concentración específica y demostrada para poseer actividad antibacteriana sobre este tipo de microorganismos, razón por la cual, presenta mayor actividad que los extractos de la planta estudiada.

## 4.2. Conclusiones

- Se determinó la actividad antibacteriana *in vitro* del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Chenopodium ambrosioides* L. (Paico) frente a *Escherichia coli* ATCC® 25922.
- Los metabolitos secundarios encontrados en el extracto hidroalcohólico al 50%, 75% y 100% de las hojas de *Chenopodium ambrosioides* L. (Paico) mediante la marcha fitoquímica fueron los compuestos fenólicos (+++), triterpenos (++) y alcaloides (+).
- Los extractos hidroalcohólicos al 50%, 75% y 100% de las hojas de *Chenopodium ambrosioides* L. (Paico) presentaron actividad antibacteriana *in vitro* valorados mediante halos de inhibición promedio de 11,11mm, 12,62m y 13,13mm frente a *Escherichia coli* ATCC® 25922.
- Al comparar la actividad antibacteriana se evidencia que el ciprofloxacino presenta mayor halo de inhibición (26.63mm) en comparación del extracto hidroalcohólico de *Chenopodium ambrosioides* L. (Paico) con 13.13mm; por lo tanto, presenta, mayor actividad antibacteriana.

### 4.3. Recomendaciones

- Fomentar por medio de las instituciones educativas la búsqueda a problemas de salud mediante los estudios experimentales sobre todo fuente de recursos las plantas medicinales.
- Evaluar la aplicabilidad de los metabolitos secundarios obtenidos en las plantas medicinales como recursos para nuevas investigaciones en animales y posteriormente en estudios clínicos.
- Promover el uso de las plantas medicinales como recurso inicial para el tratamiento de infecciones producidas por microorganismos.
- Comparar la actividad antibacteriana de *Chenopodium ambrosioides* L. (Paico) frente a diferentes antibióticos y microorganismos.



## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Quintero V. La próxima pandemia: Bacterias multirresistentes a antibióticos. AyTBUAP [Internet]. 2021;6(21):1–7. Available from: <https://repositorioinstitucional.buap.mx/handle/20.500.12371/11861>
2. ECDC. Escherichia coli (E.coli) [Internet]. European Centre for Disease Prevention and Control. 2017. Available from: <https://www.ecdc.europa.eu/en/escherichia-coli-ecoli/facts>
3. OMS/FAO. Informe de la OMS/FAO sobre la evaluación del riesgo de E. coli productora de toxina Shiga [Internet]. Higiene Ambiental. 2018 [cited 2021 Sep 24]. Available from: <https://higieneambiental.com/higiene-alimentaria/informe-de-la-omsfao-sobre-la-evaluacion-del-riesgo-de-ecoli-productora-de-toxina-shiga>
4. OMS. E. coli [Internet]. Organización Mundial de la Salud. 2018 [cited 2022 May 24]. Available from: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/e-coli>
5. Sierra R. Serotipificación de Escherichia coli aislados en coprocultivos positivos de niños menores de 5 años atendidos en el Hospital Ramiro Priale. [Internet]. 2019. Available from: <https://repositorio.upla.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12848/1229/TESIS%20FINAL.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
6. Ruíz L, Martínez S, Gomes C, Palma N, Riveros M, Ocampo K, et al. Presencia de Enterobacteriaceae y Escherichia coli multirresistente a antimicrobianos en carne adquirida en mercados tradicionales en Lima |. Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública [Internet]. 2018;35(3). Available from: <https://rpmesp.ins.gob.pe/rpmesp/article/view/3737/3120>
7. Alzamora M, Echevarría A, Ferraro V, Riveros M, Zambruni M, Ochoa T. Resistencia antimicrobiana de cepas comensales de Escherichia coli en niños de dos comunidades rurales peruanas. Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública [Internet]. 2019;36(3):459–63. Available from: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rins/v36n3/1726-4642-rins-36-03-459.pdf>
8. Plants. Chenopodium ambrosioides L [Internet]. Plantas para un futuro. 2020. Available from: <https://pfaf.org/user/Plant.aspx?LatinName=Chenopodium+ambrosioides>

9. Shameem S, Z Khan K, Waza A, S. H, Qadri H, A Ganai B. Bioactivities and Chemoprofiling Comparisons of *Chenopodium Ambrosioides* L. and *Chenopodium Botrys* L. Growing in Kashmir, India. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research* [Internet]. 2019;12(1):124. Available from:  
[https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/69753878/16684.pdf?1631814541=&response-content-disposition=inline%3B+filename%3DBioactivities\\_and\\_Chemoprofiling\\_Compari.pdf&Expires=1638467399&Signature=Nclt587YxMSOcAAOCaRPMgb3hg1LF5Zei6AXcxmrwN9V5bcmdWuHUHuv-hZIG9](https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/69753878/16684.pdf?1631814541=&response-content-disposition=inline%3B+filename%3DBioactivities_and_Chemoprofiling_Compari.pdf&Expires=1638467399&Signature=Nclt587YxMSOcAAOCaRPMgb3hg1LF5Zei6AXcxmrwN9V5bcmdWuHUHuv-hZIG9)
10. Carrillo L, Soto R, Zavaleta H, Vilchis A. Study of the Performance of the Organic Extracts of *Chenopodium ambrosioides* for Ag Nanoparticle Synthesis. *Journal of Nanomaterials*. 2016;2016.
11. Saini R, Kumar D, Mittal A. Antimicrobial and phytochemical potential of *Chenopodium album* Linn. *International Journal of Scientific and Technology Research* [Internet]. 2019;8(7):877–80. Available from:  
[https://www.researchgate.net/profile/Dinesh-Kumar-126/publication/335685636\\_Antimicrobial\\_And\\_Phytochemical\\_Potential\\_Of\\_Chenopodium\\_Album\\_Linn/links/5d74eed8a6fdcc9961b7dce6/Antimicrobial-And-Phytochemical-Potential-Of-Chenopodium-Album-Linn.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Dinesh-Kumar-126/publication/335685636_Antimicrobial_And_Phytochemical_Potential_Of_Chenopodium_Album_Linn/links/5d74eed8a6fdcc9961b7dce6/Antimicrobial-And-Phytochemical-Potential-Of-Chenopodium-Album-Linn.pdf)
12. Canet J. *Escherichia Coli*: características, patogenicidad y prevención [Internet]. Betelgeux. 2016 [cited 2021 Jul 25]. Available from:  
<http://www.betelgeux.es/blog/2016/01/19/escherichia-coli-caracteristicas-patogenicidad-y-prevencion-i/>
13. BETELGEUX. *Escherichia Coli*: características, patogenicidad y prevención (I) [Internet]. 2016. Available from:  
<https://www.betelgeux.es/blog/2016/01/19/escherichia-coli-caracteristicas-patogenicidad-y-prevencion-i/>
14. Santiago J, Cardoso M, Batista L, Castro E, Teixeira M, Pires M. Essential oil from *Chenopodium ambrosioides* L.: secretory structures, antibacterial and antioxidant activities. *Acta Scientiarum Biological Sciences* [Internet]. 2016;38(2):139. Available from:  
<https://periodicos.uem.br/ojs/index.php/ActaSciBiolSci/article/view/28303/pdf>
15. Ajaib M, Hussain T, Farooq S, Ashiq M. Analysis of Antimicrobial and Antioxidant Activities of *Chenopodium ambrosioides*: An Ethnomedicinal Plant.

- Journal of Chemistry. 2016;2016.
16. Althobaiti F. Evaluation of the chenopodium ambrosioides leaf extract from taif region, Saudi Arabia on antimicroorganisms and the assessment of its genetic diversity using the RAMP assay. Biomedical and Pharmacology Journal [Internet]. 2020;13(2):725–36. Available from: <https://biomedpharmajournal.org/vol13no2/evaluation-of-the-chenopodium-ambrosioides-leaf-extract-from-taif-region-saudi-arabia-on-antimicroorganisms-and-the-assessment-of-its-genetic-diversity-using-the-ramp-assay/>
  17. Tchani G, Agbeme K, Agbodan K, Baba G, Kpegba K. Phytochemical Study and Comparative Antioxidant Activity of Extracts from Aerial Parts of *Chenopodium ambrosioides* Linn. (Chenopodiaceae). Advances in Biological Chemistry [Internet]. 2021 Sep 26 [cited 2022 May 25];11(5):220–33. Available from: <http://www.scirp.org/journal/PaperInformation.aspx?PaperID=112718>
  18. Sanchez S, Curitima E. Actividad antibacteriana in vitro del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Chenopodium ambrosioides* paico por el método de macrodilución en caldo frente a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* [Internet]. Universidad Nacional de la Amazonía Peruana; 2016. Available from: <http://repositorio.unapikitos.edu.pe/handle/UNAP/3864>
  19. Izquierdo H. Eficacia antibacteriana de los extractos etanólicos de *Chenopodium ambrosioides* L. “paico” y el *Pimpinella anisum* L. “anis” comparado con ciprofloxacino sobre cepa de *Escherichia coli*: un estudio in vitro [Internet]. Universidad César Vallejo; 2016. Available from: [https://repositorio.ucv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12692/570/izquierdo\\_s\\_h.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://repositorio.ucv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12692/570/izquierdo_s_h.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
  20. Guzmán E, Rodríguez E. Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de las hojas de *Chenopodium ambrosioides* L “Paico” y *Schinus molle* “Molle” frente a cepas de “*Staphylococcus aureus*” 2021 [Internet]. Universidad Privada de Huancayo “Franklin Roosevelt”; 2021 [cited 2022 May 24]. Available from: <https://repositorio.uroosevelt.edu.pe/bitstream/handle/ROOSEVELT/329/TESSIS.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
  21. Guevara G, Verdesoto A, Castro N. Metodologías de investigación educativa (descriptivas, experimentales, participativas, y de investigación-acción). Revista Científica Mundo de la Investigación y el Conocimiento [Internet].

- 2020;4(3):163–73. Available from:  
<https://www.recimundo.com/index.php/es/article/view/860/1363>
22. Hernández R, Fernández C, Baptista P. Metodología de la Investigación [Internet]. 6ta ed. México, D.F.: Mc Graw Hill; 2014. Available from:  
[https://periodicooficial.jalisco.gob.mx/sites/periodicooficial.jalisco.gob.mx/files/metodologia\\_de\\_la\\_investigacion\\_-\\_roberto\\_hernandez\\_sampieri.pdf](https://periodicooficial.jalisco.gob.mx/sites/periodicooficial.jalisco.gob.mx/files/metodologia_de_la_investigacion_-_roberto_hernandez_sampieri.pdf)
23. Pavón P, Gogeoascoechea M. Metodología de la Investigación II. Universidad Veracruzana, Instituto de Ciencias de la Salud [Internet]. 2014 [cited 2022 May 16];44. Available from:  
<http://sapp.uv.mx/univirtual/especialidadesmedicas/mi2/modulo1/docs/Diseñosde...pdf>
24. Farmacopea Britanica. Extractos. In: British Pharmacopoeia Vol III [Internet]. 2017. Available from: <https://www.plantas-medicinal-farmacognosia.com/temas/extractos/>
25. M. H. Pruebas de sensibilidad antimicrobiana: metodología de laboratorio. Revista Médica del Hospital Nacional de Niños [Internet]. 1999 [cited 2019 Oct 18];34. Available from:  
[https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1017-85461999000100010](https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1017-85461999000100010)
26. EUCAST. Método de difusión con discos para el estudio de la sensibilidad a los antimicrobianos. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases [Internet]. 2016; Available from: <http://coesant-seimc.org/documents/Método de difusión con discos.pdf>
27. Sacsquispe R. Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión [Internet]. Vol. 32, Serie de Normas Técnicas N° 30. 2002. 67 p. Available from:  
<http://docplayer.net/1923603-Clinical-and-laboratory-standards-institute-advancing-quality-in-health-care-testing.html>

## **ANEXOS**

## Anexo 1. Instrumento de recolección de datos del estudio fitoquímico del extracto.

### INSTRUMENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS PARA EL ESTUDIO FITOQUÍMICO DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LAS HOJAS DE *Chenopodium ambrosioides* L. (PAICO)

**OBJETIVO:** Identificar los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Chenopodium ambrosioides* L. (PAICO).

**MÉTODO:** Metodología cualitativa de Olga Lock.(1968).

Prueba	Metabolitos	Color/ Precipitado	Resultados
Shinoda	Flavonoides	amarillo	+
Tricloruro férrico	Compuestos fenólicos Taninos	Azul violeta -	+++ -
Dragendorff	Alcaloides	Naranja ladrillo	+
Bortanger	Quinonas	rojo	++
Liebermann - Burchard	Triterpenos y esteroides	Anillo verde-azulado	++
Espuma	Saponinas	-	-
Test Mucílago	Mucílago	-	+

Fuente: Propia

Leyenda:

- Alta : +++
- Media : ++
- Baja : +
- Ausencia : -

## Anexo 2. Instrumento de recolección de datos de la actividad antibacteriana

### INSTRUMENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS PARA DETERMINAR LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA *IN VITRO* DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LAS HOJAS DE *Chenopodium ambrosioides* L. (PAICO) FRENTE a *Escherichia coli* ATCC® 25922

**OBJETIVO:** Identificar la actividad antibacteriana *in vitro* de las concentraciones del extracto hidroalcohólico al 50%, 75% y 100% frente a cepas de *Escherichia coli* ATCC® 25922.

**MÉTODO:** Método de difusión en agar en pozo, basado en los fundamentos de Kirby & Bauer, recomendados por el subcomité de ensayo de susceptibilidad (NCCLS) de los Estados Unidos y la USP 41 en su apartado 81.

Número de placas	GRUPOS EXPERIMENTALES			GRUPOS CONTROL	
	Concentraciones del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Chenopodium ambrosioides</i> L. (PAICO)			Control Negativo (etanol 70°)	Control positivo (ciprofloxacino)
	100%	75%	50%		
Placa N°01	13,55	11,98	11,02	6,43	29,99
Placa N°02	12,83	13,19	11,58	6,35	27,47
Placa N°03	13,33	12,34	11,06	5,88	28,74
Placa N°04	12,97	12,52	11,32	6,13	26,18
Placa N°05	13,09	12,59	10,97	5,34	26,68
Placa N°06	13,12	12,29	11,17	5,26	25,38
Placa N°07	12,89	12,82	11,03	6,34	26,54
Placa N°08	13,30	12,56	10,87	6,37	26,96
Placa N°09	13,02	13,20	11,03	7,02	24,94
Placa N°10	13,18	12,73	11,05	7,04	26,51
Media de los halos	<b>13,13</b>	<b>12,62</b>	<b>11,11</b>	<b>6,22</b>	<b>26,63</b>

Fuente: Duraffourd y Lapraz (1986)

Leyenda:

- Nulo (-) ≤ 8mm
- Poco sensible (+) 8mm-14mm
- Sensible (++) > 14 mm-20mm
- Muy sensible (+++) > 20mm

### Anexo 3. Matriz de consistencia

Formulación del problema	Objetivos	Hipótesis
<b>Problema General</b>	<b>Objetivo General</b>	<b>Hipótesis General</b>
¿Cuál es la actividad antibacteriana <i>in vitro</i> del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Chenopodium ambrosioides</i> L. (Paico) frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922?	Determinar la actividad antibacteriana <i>in vitro</i> del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Chenopodium ambrosioides</i> L. (Paico) frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922.	El extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Chenopodium ambrosioides</i> L. (Paico) presenta actividad antibacteriana <i>in vitro</i> frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922.
<b>Problemas Específicos</b>	<b>Objetivos Específicos</b>	<b>Hipótesis Específicas</b>
¿Cuáles son los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Chenopodium ambrosioides</i> L. (Paico)?	Identificar los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Chenopodium ambrosioides</i> L. (Paico).	Existen los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Chenopodium ambrosioides</i> L. (Paico).
¿Cuál será la actividad antibacteriana <i>in vitro</i> del extracto hidroalcohólico al 50%, 75% y 100% de las hojas de <i>Chenopodium ambrosioides</i> L. (Paico) frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922?	Determinar la actividad antibacteriana <i>in vitro</i> del extracto hidroalcohólico al 50%, 75% y 100% de las hojas de <i>Chenopodium ambrosioides</i> L. (Paico) frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922.	El extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Chenopodium ambrosioides</i> L. (Paico) al 50%, 75% y 100% presenta actividad antibacteriana <i>in vitro</i> frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922.
¿Cuál será la actividad antibacteriana <i>in vitro</i> del extracto hidroalcohólico de <i>Chenopodium ambrosioides</i> L. (Paico) comparada con ciprofloxacino frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922?	Comparar la actividad antibacteriana <i>in vitro</i> del extracto hidroalcohólico de <i>Chenopodium ambrosioides</i> L. (Paico) con ciprofloxacino frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922.	El extracto hidroalcohólico de <i>Chenopodium ambrosioides</i> L. (Paico) presenta mayor actividad antibacteriana <i>in vitro</i> que el ciprofloxacino frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922.



#### Anexo 4. Operacionalización de las variables

VARIABLES	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	DIMENSIONES	INDICADORES	ESCALA DE MEDICIÓN	N° DE ÍTEMS	VALOR
<p><b><u>Variable independiente</u></b></p> <p>Extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Chenopodium ambrosioides</i> L. (PAICO).</p>	<p>Sustancia que contiene los principios activos de las plantas los cuales han sido extraídos por medio de maceración.</p>	<p>Método: Maceración con etanol 70°.</p>	<p>Marcha fitoquímica (Metabolitos Secundarios)</p> <p>Concentración del extracto de las hojas.</p>	<p>*Flavonoides *Alcaloides *Taninos *Terpenos *Quinonas *Compuestos fenólicos</p> <p>*Porcentaje(%)</p>	<p>nulo (0) escaso (1+) Regular Abundante</p> <p>Razón</p>	<p>6</p> <p>3</p>	<p>1+, 2+, 3+</p> <p>100 75 50</p>
<p><b><u>Variable dependiente</u></b></p> <p>Actividad antibacteriana <i>in vitro</i> sobre <i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922.</p>	<p>Proceso de disminución o muerte de la bacteria <i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922 por medio de un agente antibacteriano.</p>	<p>Método de difusión en pozo, con medición de los halos de inhibición.</p>	<p>Halo de inhibición (mm)</p>	<p>Diámetros de halos: Escala de Duraffourd y Lapraz.</p>	<p>Nulo (-) Poco sensible Sensible Muy sensible</p>	<p>4</p>	<p>≤ 8mm (-) 8mm- 14mm (+) &gt; 14 mm- 20mm (++) &gt; 20mm : (+++)</p>

## Anexo 5. Certificado botánico

Hamilton W. Beltrán S.  
Consultor Botánico  
Calle Natalio Sánchez 251- Jesús María  
hamiltonbeltran@yahoo.com

### CERTIFICACIÓN BOTÁNICA

El Biólogo colegiado, certifica que la planta conocida como “PAICO” proporcionada por los Bachilleres, **Mirtha Guiomar Banda Díaz** y **Jessica Tineo Flores**, Tesisistas de la Universidad María Auxiliadora, ha sido estudiada científicamente y determinada como *Chenopodium ambrosioides* L. y de acuerdo al Sistema de Clasificación de Cronquist 1981, se ubica en las siguientes categorías:

Reino:           Plantae  
División:       Magnoliophyta  
Clase:           Magnoliopsida  
Orden:          Caryophyllales  
Familia:        Amaranthaceae  
Genero:         *Chenopodium*  
Especie:        *Chenopodium ambrosioides* L.

Se expide la presente certificación a solicitud de los interesados para los fines que estime conveniente.

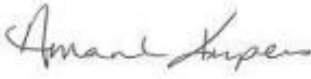




Lima, 15 julio del 2022

  
Bigo. Hamilton Beltrán  
Hamilton W. Beltrán Santiago  
Físico - Botánico -  
C.R. 2719

## Anexo 6. Certificado ATCC® de análisis de *Escherichia coli*



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

<b>Specifications</b> <b>Microorganism Name:</b> Escherichia coli <b>Catalog Number:</b> 0335 <b>Lot Number:</b> 335-506** <b>Reference Number:</b> ATCC® 25922™** <b>Purity:</b> Pure <b>Passage from Reference:</b> 3	<b>Expiration Date:</b> 2024/3/31 <b>Release Information:</b> <b>Quality Control Technologist:</b> Mary L Bowman <b>Release Date:</b> 2022/4/8
<b>Performance</b>	
<b>Macroscopic Features:</b> 2 colony types, both are gray & beta hemolytic: one is circular to irregular, convex, slightly erose edge & smooth; other is larger, irregular, low convex, erose edge & rough <b>Microscopic Features:</b> Gram negative straight rod	<b>Medium:</b> SBAP <b>Method:</b> Gram Stain (1)
<b>ID System:</b> MALDI-TOF (1)  See attached ID System results document.	<b>Other Features/ Challenges: Results</b> (1) Oxidase (Kovacs): negative Beta-glucuronidase (E. coli Broth w/MUG): positive (1) Ampicillin (10 mcg - Disk Susceptibility): 15 - 22 mm (1) Gentamicin (10 mcg - Disk Susceptibility): 19 - 26 mm (1) SXT (1.25/23.75 mcg - Disk Susceptibility): 23 - 29 mm   Amanda Kuperus Quality Control Manager AUTHORIZED SIGNATURE
<p><b>**Disclaimer:</b> 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><b>Note for Vitek®:</b> 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> <div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div data-bbox="239 1321 446 1467">   <b>ACCREDITED</b>                  REFERENCE MATERIAL PRODUCER                  CERT #2655.02             </div> <div data-bbox="414 1467 1340 1512"> <p>(*) The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC Microbiologics, Inc. is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures.</p> </div> <div data-bbox="239 1478 399 1691">                   ATCC Licensed Derivative     <b>ACCREDITED</b>                  TESTING CERT #2655.01             </div> </div> <p>(1) These tests are accredited to ISO/IEC 17025:2005.</p>	



## 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)	<b>High consistency:</b> 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)	<b>Low consistency:</b> 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)	<b>No consistency:</b> 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)	335-506	Escherichia coli	2.55

Comments:

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



## Anexo 7. Evidencias del trabajo realizado



**Figura 2. Recolección de la planta**



**Figura 3. Extracción de las hojas y selección de la muestra**



**Figura 4. Lavado, desinfección y secado a temperatura ambiente de las hojas**





**Figura 5. Secado y deshidratación en estufa de las hojas de paico**





**Figura 6. Pulverizado de las hojas de paico**



**Figura 7. Maceración del pulverizado de las hojas de paico**



**Figura 8. Filtración y evaporación del solvente**





**Figura 9. Obtención del extracto seco de la especie vegetal**

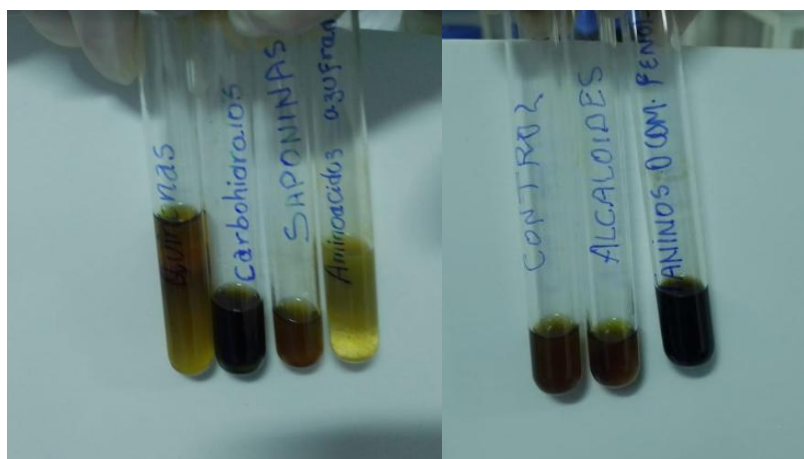
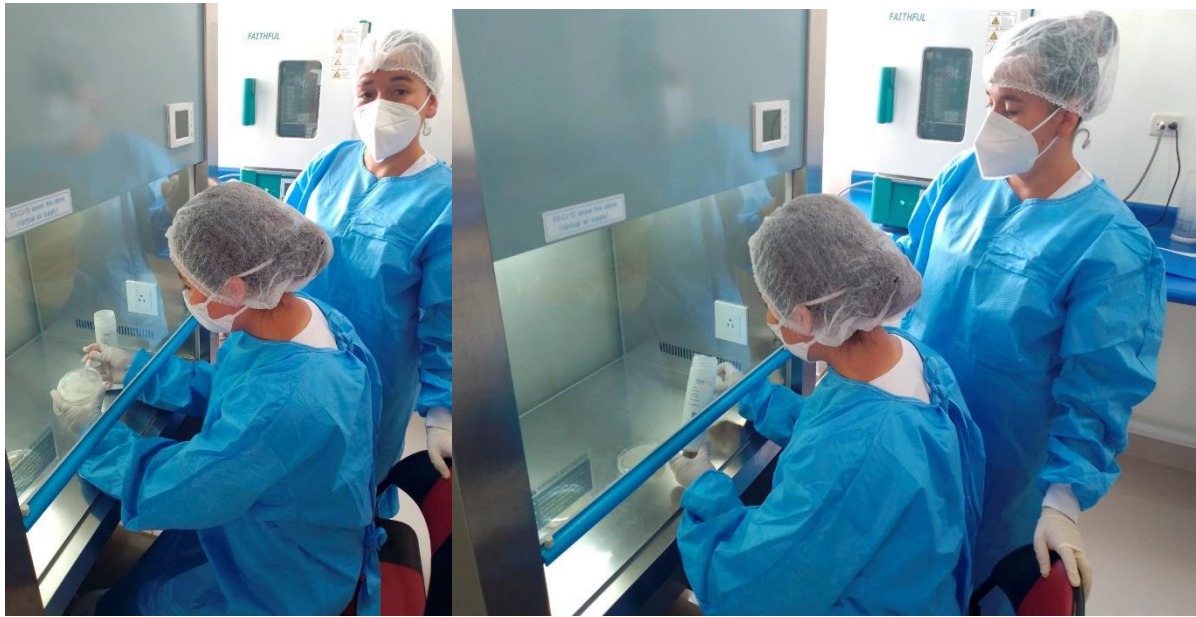


Figura 10. Marcha fitoquímica





**Figura 11. Activación de la cepa**



**Figura 12. Preparación del cultivo bacteriano**



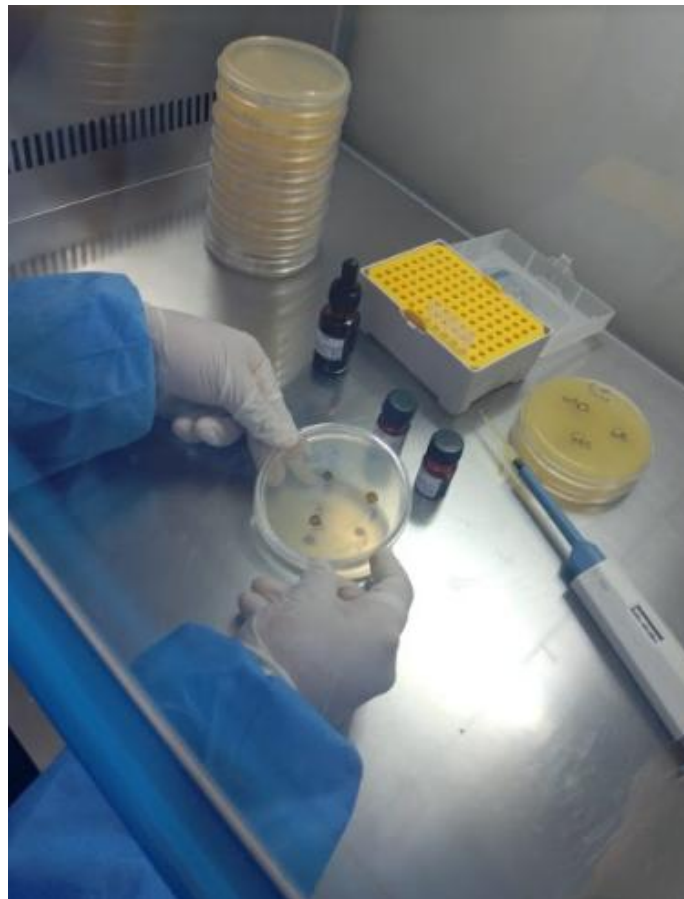
**Figura 13. Sembrado del cultivo en placa**





**Figura 14. Preparación de pozos en agar e identificación**





**Figura 15. Aplicación del extracto de paico a diferentes concentraciones sobre agar**



Figura 16. Recolección de datos de la ciprofloxacin



Figura 17. Recolección de datos de los extractos de Paico