

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

EFECTO INHIBITORIO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS HOJAS DE Capparis ovalifolia (VICHAYO) FRENTE A Escherichia coli ATCC 25922, IN VITRO

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE QUÍMICO FARMACÉUTICO

AUTORES

Bach. ALAMO VALDERA, MARLENY

https://orcid.org/0009-0007-9353-152X

Bach. VALDIVIA RODAS, VICENTA

https://orcid.org/0009-0003-6212-456X

ASESOR

Mg. PINEDA PÉREZ, NEUMAN MARIO

https://orcid.org/0000-0001-6818-7797

Lima – Perú 2023

AUTORIZACIÓN Y DECLARACIÓN JURADA DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD

Yo, Marleny Alamo Valdera, con DNI 17621135, 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**¹ que dicho documento es **ORIGINAL** con un porcentaje de similitud de 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 febrero del año 2023.

Alamo Valdera Marleny 17621135

Pineda Pérez Neuman Mario 09410930

¹ 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, Vicenta Valdivia Rodas, con DNI <u>43748370</u>, 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**² que dicho documento es **ORIGINAL** con un porcentaje de similitud de 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 febrero del año 2023.

Valdivia Rodas Vicenta 43748370

Pineda Pérez Neuman Mario 09410930

² 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.

TESIS EFECTO INHIBITORIO

14% 14% 4% 5% TRABAJOS DE INTERNET PUBLICACIONES ESTUDIANTE	DEL
FUENTES PRIMARIAS	
repositorio.uroosevelt.edu.pe Fuente de Internet	5%
repositorio.uma.edu.pe Fuente de Internet	5%
hdl.handle.net Fuente de Internet	2%
Submitted to Universidad Cesar Vallejo Trabajo del estudiante	1%
5 1library.co Fuente de Internet	1 %

Excluir citas Activo
Excluir bibliografía Activo

Excluir coincidencias < 1%

DEDICATORIA

Esta tesis la dedico en primer lugar a Dios, luego a mis padres, a mi hija y esposo, quienes fueron un apoyo fundamental e incondicional en mi carrera profesional. Gracias a ellos he logrado concluir con mucho esfuerzo y sacrificio mis estudios.

A mi hija, quien fue el motivo más importante de mi sacrificio por salir adelante y servirle de ejemplo. Lo que uno se propone en la vida con mucho sacrificio se llega a conseguir.

Vicenta Valdivia Rodas

A Dios, por permitirme llegar a este momento tan especial en mi vida, por los logros alcanzados y que, en los momentos difíciles, Él ha estado dándome la fortaleza para seguir adelante en este camino.

A mis padres por ser las personas que me han acompañado siempre, por el apoyo incondicional que me han brindado en todo momento.

A mi hermano Roger por brindarme sostenibilidad emocional y espiritual.

A mis sobrinas: Jessica, Vilma y Juanita por su apoyo incondicional.

A mi compañera de tesis, Vicenta Valdivia, que sin su ayuda todo esto no sería posible y a todas las personas que siempre han estado presente en este camino.

Marleny Alamo Valdera

AGRADECIMIENTO

Agradecer en primer lugar a Dios por darnos salud y bienestar para continuar con nuestras metas y así cumplir nuestro sueño trazado, de ser profesionales a pesar de las dificultades presentadas.

Agradecer a la Universidad María
Auxiliadora por darnos la facilidad para ser
parte de esta casa de estudios, a nuestro
asesor el Mg. Neuman Mario Pineda Pérez y
a todos los colaboradores que estuvieron
presente en nuestro proyecto de tesis.

Las autoras

ÍNDICE GENERAL

		Pagina
RESU	MEN	x
	RACT	
	ITRODUCCIÓN	
II. M	ATERIALES Y MÉTODOS	16
II.1.	Enfoque y diseño de la investigación	16
II.2.	Población, muestra y muestreo	16
II.3.	Variables de investigación	17
II.4.		
II.5.	Plan metodológico para la recolección de datos	18
II.6.	Procesamiento del análisis estadístico	21
II.7.	Aspectos éticos	21
III. R	ESULTADOS	22
IV. D	ISCUSIÓN	29
IV.1.	Discusión de resultados	29
IV.2.	Conclusiones	31
IV.3.	Recomendaciones	31
V. R	EFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	33
ANEX		00
	exo 1. Instrumento de recolección de datos	36
	exo 2. Marcha fitoquímica del extracto etanólico	37
Ane	exo 3. Matriz de consistencia	38
Ane	exo 4. Operacionalización de las variables	39
Ane	exo 5. Certificación Botánica	40
Ane	exo 6. Certificado de Análisis de Escherichia coli ATCC 25922TM	41
Ane	exo 7. Fotografías del desarrollo del estudio	43

INDICE DE TABLAS

Páginas

Tabla 1. Metabolitos secundarios del "extracto etanólico de las hojas de	Capparis
ovalifolia (Vichayo)"	22
Tabla 2. Evaluación de la sensibilidad de Escherichia coli frente extract.	etanólico
de las hojas de" Capparis ovalifolia (vichayo) al 100%, 80% y 60%	23
Tabla 3. Determinación del comportamiento normal por grupo	25
Tabla 4. Evaluación de las varianzas homogéneas	25
Tabla 5. Análisis de la varianza (ANOVA)	26
Tabla 6. Determinación de subgrupos homogéneos	27
Tabla 7. "Sensibilidad antibacteriana de Escherichia coli ATCC 25922 fre	ente a los
grupos de tratamiento - Duraffourd"	28

INDICE DE FIGURAS

	Páginas
Figura 1. Evaluación de la sensibilidad "de Escherichia coli in vitro frente al extract.	
etanólico de las hojas" de Capparis ovalifolia (Vichayo) al 100%, 80% y 60%.	24
Figura 2. Obtención de la muestra en estudio	43
Figura 3. Acondicionamiento de la especie vegetal en estudio	44
Figura 4. Limpieza y desinfectación de la especie vegetal	44
Figura 5. Secado a medio ambiente bajo sombra	44
Figura 6. Trituración y pulverización de la especie en estudio	45
Figura 7. Tamizado del polvo obtenido de las hojas de Vichayo	45
Figura 8. Proceso de maceración de la especie en estudio	46
Figura 9. Filtrado y evaporado del macerado	46
Figura 10. Obtención de los grupos de estudio (extractos)	47
Figura 11. Reactivación de la bacteria de la cepa en estudio	47
Figura 12. Preparación y sembrado del cultivo en placas	47
Figura 13. Elaboración de pocitos en placas	48
Figura 14. Colocación del extracto en placa	48
Figura 15. Incubación de cepas en placa	48
Figura: 16. Medición de halos – efecto inhibitorio	49

RESUMEN

Objetivo: Demostrar el efecto inhibitorio que presenta el extracto etanólico de las hojas de *Capparis ovalifolia* (vichayo) frente a *Escherichia coli* ATCC 25922 in vitro

Método: La metodología empleada se basó en un estudio con enfoque cuantitativo, de diseño experimental, prospectivo, con respecto a la población de estudio estuvo conformada por 5 kilogramos de hojas de *Capparis ovalifolia* (vichayo), la que fue obtenida en el distrito de Morrope, de la provincia y departamento de Lambayeque, a partir de la cual se obtuvo el extracto etanólico de las hojas mediante maceración con etanol de 96°, se empleó el método de difusión en pozo para evaluar el efecto inhibitorio frente a *Escherichia coli* ATCC 25922, el análisis estadístico se realizó con un nivel de significancia del 0.05 mediante las pruebas de ANOVA y Tukey.

Resultados: Se identificaron como metabolitos secundarios compuestos fenólicos, taninos, y alcaloides, con respecto al efecto inhibitorio los halos de inhibición formados fueron de 12,77±0,48mm para el extracto etanólico de Vichayo al 100%, de 10,79±0,44mm para el extracto etanólico de Vichayo al 80% y de 9,62±0,54mm para el extracto etanólico de Vichayo al 60%, por su parte, los grupos control obtuvieron halos de inhibición promedio de 6,19±0,28mm (control negativo) y 25,49±0,46mm (control positivo), mediante la prueba de ANOVA se determinó diferencia estadísticamente significativas entre los grupos de trabajo, y la prueba de Tukey confirmó el efecto inhibitorio del extracto etanólico de Vichayo, el cual fue menor que el ciprofloxacino.

Conclusión: El extracto etanólico de las hojas de *Capparis ovalifolia* (vichayo) presentó efecto inhibitorio frente a *Escherichia coli* ATCC 25922 in vitro.

Palabras clave: Capparis ovalifolia, Escherichia coli, Extracto etanólico, Vichayo

ABSTRACT

Objective: To demonstrate the inhibitory effect of the ethanolic extract of the leaves

of Capparis ovalifolia (vichayo) against Escherichia coli ATCC 25922 in vitro.

Method: The methodology used was based on a study with a quantitative approach,

with an experimental, prospective design, with respect to the study population, it

was made up of 5 kilograms of leaves of Capparis ovalifolia (vichayo), which was

obtained in the district of Morrope, from the province and department of

Lambayeque, from which the ethanolic extract of the leaves was obtained by

maceration with 96° ethanol, the well diffusion method was used to evaluate the

inhibitory effect against Escherichia coli ATCC 25922, Statistical analysis was

performed with a significance level of 0.05 using the ANOVA and Tukey tests.

Results: Phenolic compounds, tannins, and alkaloids were identified as secondary

metabolites. Regarding the inhibitory effect, the inhibition halos formed were

12.77+0.48mm for the 100% Vichayo ethanolic extract, 10.79+0.44mm. for the 80%

Vichayo ethanolic extract and 9.62+0.54mm for the 60% Vichayo ethanolic extract,

on the other hand, the control groups obtained average inhibition halos of

6.19+0.28mm (control negative) and 25.49+0.46mm (positive control), by means of

the ANOVA test a statistically significant difference was determined between the

work groups, and the Tukey test confirmed the inhibitory effect of the Vichayo

ethanolic extract, which was lower than ciprofloxacin

Conclusion: The ethanolic extract of the leaves of Capparis ovalifolia (vichayo)

presented an inhibitory effect against Escherichia coli ATCC 25922 in vitro.

Keywords: Capparis ovalifolia, Escherichia coli, Ethanol extract, Vichayo

χi

I. INTRODUCCIÓN

Existen numerosos microorganismos unicelulares que habitan en todo el planeta aun en los lugares más inhóspitos para el ser humano, algunos de estos pueden vivir en simbiosis con el hombre sin causarle daño alimentándose de él en un estado de equilibrio, por tal razón se les conoce saprófitos, pero cuando esta relación de equilibrio se rompe y estos se incrementan en número se vuelven patógenos, tal es el caso de *Escherichia coli*¹.

Escherichia coli, se ha convertido en poco tiempo uno de los microorganismos de mayor estudio por el hombre, por la importancia de su investigación en biotecnología y la alta resistencia y patogenicidad que vienen desarrollando a pesar de ser un microorganismo común en la flora intestinal del hombre; por tal razón la industria farmacéutica desarrolla fármacos cada día más potentes para contrarrestar las infecciones por estos microorganismos; sin embargo, el incremento de la resistencia sigue en aumento provocando incremento de los índices de morbilidad y mortalidad a nivel mundial².

La OMS advierte que el incremento de la resistencia a los antimicrobianos se incrementa a cifras alarmantes en todo el mundo, lo que trae como consecuencia que enfermedades que originalmente ya eran curables ahora no se puedan tratar con los antibióticos, siendo estos inefectivos, motivo por el cual se debe recurrir al uso de antibióticos de mayor espectro y más costosos³.

Varios estudios han citado que a nivel mundial la décima parte de la población mundial contraen algún tipo de infección por consumo de alimentos contaminados o en mal estado y anualmente como consecuencia de esto mueren cerca de 420 mil personas; por otro lado, las cifras demuestran que los estadounidenses, están propensos a las bacterias resistentes causando dos millones de infectados y veintitrés mil muertes al año, ocasionando un gasto al sector sanitario de 35 millones. También, estudios realizados en centros urbanos de países subdesarrollados han demostrado que los serogrupos de *Escherichia coli* enteropatógena clásica (EPEC) son los principales agentes enteropatógenos en niños menores de dos años pertenecientes a clases socioeconómicas menos

favorecidas, afectadas por formas severas de diarrea aguda^{4,5}.

A nivel Latinoamericano las cifras son muy similares, al año setenta millones de pobladores se contagian con alimentos contaminados o en mal estado y mueren aproximadamente nueve mil de estos, observándose que la bacteria de mayor prevalencia encontrada en estos casos es *Escherichia coli*. En el Perú se evidencia que las enfermedades producidas por *Escherichia coli* en niños de las zonas rurales o cercanas a la zona urbana muestran cepas de *Escherichia coli* resistente a diferentes fármacos como el ac. Nalidíxico, cotrimoxazol y ampicilina⁶.

A nivel local en la ciudad de Chiclayo se observa la misma problemática en torno a las infecciones por alimentos, siendo las bacterias responsables las correspondientes a la Gram (-) como Escherichia coli, Proteus mirabilis, Klebsiella pneumoniae, entre otras observándose la misma resistencia bacteriana a los fármacos mencionados líneas arriba⁷.

La resistencia bacteriana es sin lugar a duda una problemática a nivel mundial y local, siendo *Escherichia coli* una de las bacterias mayor importancia en el sector salud, es necesario buscar mecanismos que ayuden a mejorar esta situación y revertir las cifras de la resistencia bacteriana, así también, los casos de infecciones por *Escherichia coli*. En tal sentido, en el presente trabajo de investigación nos planteamos la siguiente pregunta al problema de estudio:

¿Qué efecto inhibitorio presenta el extracto etanólico de las hojas de *Capparis* ovalifolia (vichayo) frente a Escherichia coli ATCC 25922, in vitro?

El marco teórico, en el cual nuestro estudio se respalda, se cita a continuación:

La especie *Capparis ovalifolia*, perteneciente a la familia *Capparaceae*, geográficamente se ubica en América tropical y parte de nuestro Perú, especialmente en las zonas de Tumbes, Piura y Lambayeque. Se encuentra como arbustos o árboles pequeños, las ramas relativamente delgadas, hojas pecioladas, ovaladas a oblongo-obovadas, ampliamente redondeadas y minuciosamente micronuladas, cuneadas, de 4-6 cm. de largo, 2-3 cm. anchas, lustrosas y densamente estrelladas-canescentes por debajo, el pecíolo de aproximadamente 1 cm. de largo, densamente estrellado-canescente; inflorescencia terminal, algo más corta que las hojas subtendientes, corimbiforme-

racemosa, con varias flores blancas pequeñas, densamente estrelladascanescentes en todas partes⁸.

Las plantas del género *Capparis*, presentan propiedades medicinales que se usan para tratar la artritis, anemia, reumatismo, ayudar a mejorar la función hepática, se usa como diurético, como fuente de proteína vegetal, entre otras aplicaciónes, entre los componentes activos que evidencian los estudios tenemos a esteroides y triterpenoides, así mismo, taninos, kaempeferol y quercetina, sin lugar a dudas estos dos últimos han demostrado poseer propiedades antimicrobianas, antiinflamatorias y anitoxidantes⁹.

Escherichia coli, es un bacilo corto, gramnegativo, no esporulado, que mide entre 1,1 a 1,5μm por 2 a 6μm, en su mayoría móvil, debido a la existencia de flagelos peritricos. La temperatura óptima de crecimiento es dentro de los 37°C. Esta bacteria se caracteriza por su metabolismo anaeróbico facultativo, siendo capaz de realizar respiración, además de fermentar, con producción de ácido y gas, lactosa. Esta bacteria habitualmente vive en los intestinos de personas y animales. La mayoría de ellas son inofensivas, de hecho, conforman un papel importante en el tracto intestinal humano sano. No obstante, algunas son patógenas y pueden causar enfermedades como diarrea o infecciones fuera del tracto intestinal. La patogenicidad de *Escherichia coli* se manifiesta por un mecanismo multifactorial y complejo que involucra varios factores de virulencia, que varían según el serotipo. El término factor de virulencia es impreciso, ya que un solo componente puede no ser suficiente para transformar una cepa de *Escherichia coli* en patógena, pero la combinación con otros determinantes de virulencia jugaría un papel decisivo en su patogenicidad¹0,11.

Por otro lado, en referencia a las pruebas empleadas para la determinación de la actividad antibacteriana podemos mencionar a la prueba microbiológica de difusión en disco o Kirby-Bauer, la cual ha sufrido varias modificaciones como la técnica de difusión en pozo, ambos son técnicas aprobadas por el National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS)para la determinación de la sensibilidad microbiana o actividad antibacteriana a un tipo de sustancia¹².

Con respecto a los antecedentes internacionales podemos mencionar a:

Zhang H, Ma Z. (2018) en su investigación sobre las propiedades fitoquímicas y farmacológicas de *Capparis spinosa* como planta medicinal, realizado de partes aéreas, raíces y semillas, donde se logró evidenciar la presencia de compuestos bioactivos como alcaloides, flavonoides (rutina y quercetina) siendo la rutina la más abundante, estreroides, terpenoides y tocoferoles, además de capparina A, capparina B, flazina, guanosina, 1 H-indol-3-carboxaldehído, 4-hidroxi-1 *H-indol-3-carboxaldehído* apigenina, kaempferol y thevetiaflavone identificados en los frutos de C.*spinosa*, indican así mismo que estos principios pueden ser importantes para la salud como cardioprotector versátil, reductor del colesterol, anticancerígeno y antiinflamatorio¹³.

Mansour R, et al (2016) en su investigación con respecto al contenido fenólico y actividad antioxidante del extracto etanólico de Capparis spinosa demostraron la presencia de alta cantidad de compuestos fenólicos totales y altos niveles de flavonoides y antocianinas además exhibió actividad antioxidante en pruebas químicas y biológicas, estos resultados revelaron efectos antioxidantes de, HECS y sugieren que las hojas de C. spinosa son una fuente potencial de moléculas antioxidantes naturales con posibles aplicaciones en la industria y la medicina¹⁴. Gull T, et al (2015), realizaron un estudio sobre la actividad antibacteriana de los extractos acuosos, acetónicos, etanólicos y metanólicos de Capparis spinosa y Capparis decidua, se prepararon extractos de la corteza de tallo, brote, fruto, flor y raíces de ambas plantas, se evaluó en el crecimiento de cuatro bacterias Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Bacillus subtilis y Pasteurella multocida utilizando ensayos de difusión en disco y concentración inhibitoria mínima (MIC), después de comparar todos los extractos, se encontró que los extractos metanólicos de partes seleccionadas de ambas especies, redujeron significativamente el crecimiento de las cuatro bacterias aunque diferentes extractos expresaron una eficacia variable en la reducción del crecimiento bacteriano, Escherichia coli fue efectivamente reducida por extractos metanólicos de raíces y brotes de C. decidua (29.1mm y 26.7 mm, respectivamente)¹⁵

Mahboubi M, (2015), mediante su investigación "Actividad antimicrobiana de *Capparis spinosa* como sus usos en la medicina tradicional" mediante el cual analizaron diferentes extractos con diferentes solventes como agua, metanol, etanol y acetato de etilo de los frutos y raíces de la planta bacterias y hongos

que infectan el ser humano, mediante la técnica de microdilución, la planta exhibió efecto inhibitorio contra bacterias y hongos con el excepción de *Pseudomonas aeruginosa*, el estudio revela los usos tradicionales de las raíces y extractos de frutas como agente antimicrobiano¹⁶

Vasquez A, Barturen F (2021), en su investigación determinaron el "Efecto antibacteriano de *Capparis ovalifolia* (Vichayo) frente a *Staphylococcus aureus*", el aceite se pudo obtener por Soxhlet y el extracto etanólico por medio de maceración, el efecto antibacteriano se pudo determinar microbiologicamente haciendo uso de la técnica difusión en pozo. Los resultados encontrados para el extrato etanólico de las hojas de *Capparis ovalifolia* (Vichayo) para el 100% fue de 13.32mm para el 75% de 11,23mm y para el 50% de 9.58mm¹⁷.

Ante lo mencionado, el objetivo general de investigación es:

Demostrar el efecto inhibitorio que presenta el extracto etanólico de las hojas de Capparis ovalifolia (vichayo) frente a Escherichia coli ATCC 25922 in vitro

Ante estas premisas, se planteó la hipótesis general: El extracto etanólico de las hojas de *Capparis ovalifolia* (vichayo) presentan efecto inhibitorio frente a *Escherichia coli* ATCC 25922, in vitro.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

II.1. Enfoque y diseño de la investigación

- Enfoque Cuantitativo: Porque buscó determinar mediante el análisis estadístico de las variables la relación de causalidad.
- Diseño experimental: Porque el investigador intervino mediante la modificación y estimulación de las variables para demostrar su relación.
- Estudio prospectivo. Porque los datos fueron recolectados en un tiempo posterior al estudio de las variables de experimentación. 18,19

II.2. Población, muestra y muestreo

Población: Fue constituida por 5 kilogramos de hojas de Capparis

ovalifolia (vichayo) recolectada en el distrito de Morrope, de la provincia de Lambayeque, departamento del mismo nombre a la altura del kilómetro 818 de la Panamericana Norte, ubicada a una latitud Sur de 6.5523° y una longitud Oeste de 80.0145°.

La especie vegetal estuvo identificada por un profesional botánico de la Universidad Mayor de San Marcos, quien aprobó la especie en estudio mediante emisión del certificado de taxonomía de la planta.

Muestra: Se hizo uso de 2 kilogramos de hojas de *Capparis ovalifolia* (Vichayo) los cuales cumplieron los siguientes criterios

<u>Criterio de inclusión</u>: Muestra debe ser fresca, sin signos de contaminación o plaga, recolectada directamente de la planta.

<u>Criterio de exclusión</u>: Muestra que no corresponda a la especie en estudio, recolectada de otra área geográfica o en otro momento.

Unidad de análisis: La unidad de análisis se representó por la cepa microbiológica correspondiente a la bacteria *Escherichia coli* ATCC 25922, proporcionada por intermedio del Laboratorio GenLab SAC, quien brindó la certificación de pureza de la bacteria.

Muestreo: No probabilístico por conveniencia

II.3. Variables de investigación

Variable independiente: Extracto etanólico de las hojas de Capparis ovalifolia (vichayo).

- **Definición conceptual**. Producto de consistencia pastosa obtenida de las hojas de la planta. y que presenta sustancias activas de la misma
- **Definición operacional**. Producto obtenido por maceración de las hojas de *Capparis ovalifolia* (vichayo).

Variable dependiente: Efecto inhibitorio frente a Escherichia coli ATCC 25922

 Definición conceptual. Acción de evitar el crecimiento de Escherichia coli ATCC 25922 Definición operacional. Medición del diámetro del halo formado en los cultivos de Escherichia coli ATCC 25922

II.4. Técnicas e instrumentos para la recolección de datos Ficha de recolección de datos para la actividad microbiológica:

La ficha de recopilación de datos para la actividad microbiológica, se elaboró siguiendo la información proporcionada por Vásquez y Barturen (2021)¹⁷, la ficha contenía el registro de la actividad microbiológica basada en el diámetro de los halos de inhibición y estuvo dividida en grupos de tratamiento experimental (60%, 80% y 100%) de los grupos control etanol y ciprofloxacino, tomando en consideración 15 repeticiones para cada grupo de tratamiento.

Ficha de recolección de datos de la marcha fitoquímica:

La ficha de recopilación de datos para la marcha fitoquimica, se realizó siguiendo la información proporcionada por Ruíz et. al. (2020)²⁰ los resultados obtenidos con respecto a la identificación de los metabolitos secundarios se registraron por tipo de metabolitos y la determinación de este, además se consideró el tipo de ensayo realizado para la identificación.

II.5. Plan metodológico para la recolección de datos

II.5.1 Elaboración del extracto

La elaboración del extracto se realizó siguiendo el método propuesto por Bruneton J. adaptado por Vásquez y Barturen (2021)¹⁷, las hojas seleccionadas de *Capparis ovalifolia* (vichayo) se lavaron con agua corriente y desinfectadas con una solución de hipoclorito de sodio al 0.1% v/v por 3 minutos, y luego fueron lavadas nuevamente para eliminar el hipoclorito de sodio, seguidamente se colocaron sobre papel Kraft en una mesa a corriente de aire directa pasa su secado y posterior deshidratación en estufa.

Luego se procedió a triturarlas y pulverizarlas en un molinillo de sincronización seco.

El pulverizado fue colocado en frascos ámbar de 2.5 litros de capacidad donde se adicionó el doble en volumen de etanol de 96°, se dejó macerar por

10 días a temperatura ambiente con agitación cada 12 horas por 5 minutos. Luego que transcurrió dicho tiempo el macerado fue filtrado (papel de filtro) y llevado a la estufa con una temperatura de 45°C hasta que se logró evaporar el solvente.

El extracto que se obtuvo fue preparado a las concentraciones del 60% (60 mg/mlL), 80% (80 mg/mlL) y 100% (100 mg/mlL), mediante pesada directa y disolución con etanol de 96°, los extractos fueron colocados en frascos ámbar y rotulados

Se obtuvo 56 gr. de extracto de una muestra de 2000 gr.; obteniendo un porcentaje de rendimiento de según la siguiente fórmula:

$$\frac{56gr}{2000}$$
 x 100 = 2,8 %

II.5.2 Marcha fitoquímica

Se realizó siguiendo el método propuesto por Lock, O (2013) y adaptada por Ruíz et. al. (2020)²⁰ la identificación de los metabolitos secundarios fueron realizados mediante los siguientes ensayos²¹:

Ensayo de Dragendorff: Mediante este ensayo se logró identificar alcaloides, al interactuar el Bismuto del reactivo con dos moléculas de alcaloides. Se colocó una alícuota de 0.5 ml del extracto en un tubo de ensayo y se agregó Il gotas del reactivo, una turbidez pronunciada o precipitado naranja indicó la presencia de alcaloides.

Ensayo de ninhidrina: En este ensayo se identificaron aminoácidos mediante la acción del reactivo con alfa aminoácidos o aminas primarias y ayuda del calor que facilita la reacción que es positiva con la aparición de un color azul-violeta. Se agregó en un tubo de ensayo 0.5 ml del extracto en un tubo de ensayo y agrega IV gotas del reactivo, la coloración azul-violeta indicó la presencia de aminoácidos.

Ensayo de Borntrager: Para la determinación de quinonas, el reactivo genera en presencia de quinonas una coloración de rojo a violeta según lo sustituyentes en medio básico. Se colocó una alícuota de 0.5 ml del extracto en un tubo de ensayo y se agregó II gotas del reactivo y se observó cambio de coloración.

Ensayo de Liebermann-Burchard: Este tipo de ensayo se emplea para determinar compuesto de tipo triterpenos y esteroides, siendo positiva la

reacción con el reactivo si existe la formación de un color verde o azul verdoso. En un tubo de ensayo se colocó una alícuota de 0.5 ml del extracto y agrega II gotas del reactivo, si se genera la reacción se apreciará un color verde o verde-azul.

Ensayo de Shinoda: El ensayo se emplea para determinar flavonoides variando los colores de naranja a violeta según el tipo. De igual manera se emplea 0.5ml de extracto y agrega limaduras de magnesio y 1 ml de HCl concentrados, posteriormente se agrega III gotas del reactivo y aprecia la coloración existente.

Ensayo para taninos con FeCl₃: Este ensayo se emplea para determinar taninos mediante la reacción con el tricloruro férrico, se agrega en un tubo de ensayo 0.5 ml del extracto y agrega II gotas de tricloruro férrico, la formación de una coloración azul-violeta confirma la reacción positiva para presencia de taninos.

II.5.4 Actividad antibacteriana

El desarrollo de la actividad antibacteriana se ejecutará siguiendo el método propuesto Kirby Bauer y modificada por Álvarez B (2020)²², la cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922 una vez adquirida, fue suspendida en caldo TSA y se colocó en incubación por 24 horas a 37°C, posteriormente con un hisopo se sembró en estrías en agar MacConkey por 48 horas y se llevaron a incubación por 24 a 48 horas, se visualizó el crecimiento de colonias.

Se preparó el inóculo tomando dos asadas con un asa bacteriológica de las colonias y suspendiendo en 10 ml de agua destilada en un tubo de ensayo, se realizaron tantas diluciones sean necesarias para alcanzar el patrón de McFarland de 0.5.

De este último tubo se realizaron los sembrados en placa Petri con agar Miuller Hinton en 30 placas Petri donde se dividieron en dos grupos de 15 placas cada una, en el grupo I se prepararon 3 pocitos de 6 mm de diámetros y en el otro grupo II se prepararon 2 pocitos, en el grupo I, se rotuló cada pozo con los valores de 60%, 80% y 100% donde se colocó 30 uL de los extractos respectivamente según la concentración. En el grupo dos se agregaron 30 ul de etanol (control negativo) y ciprofloxacino (control positivo).

Las placas fueron llevadas a incubación por 24 horas a 37°C + 1 y luego de

este tiempo se reconocieron los halos de inhibición formados y se procedió a realizar las mediciones del diámetro de los halos mediante el Pye de Rey, para posteriormente registrarlo en la ficha donde se recolectaron los datos.

II.6. Procesamiento del análisis estadístico

Mediante el análisis estadístico se logró demostrar la hipótesis del estudio, para lo cual se determinaron los valores de media y desviación estándar de los halos de inhibición, así mismo, se aplicaron pruebas de normalidad para luego aplicar las pruebas inferenciales de ANOVA y Tukey (significancia del 0.05).

II.7. Aspectos éticos

Los principios éticos considerados en el estudio fueron por su naturaleza el de no maleficencia, cuidando en todo momento la salud y seguridad de los participantes en el desarrollo del estudio, así mismo, se tuvo especial cuidado en el manejo de los residuos biocontaminantes. Por otro lado, el trabajo de investigación representó únicamente el esfuerzo de los investigadores y por lo tanto recayó la responsabilidad, si hubiera sido necesario, únicamente sobre ellos si es que se hubiera detectado algún inconveniente durante su desarrollo^{17,18}.

III. RESULTADOS

Tabla 1. Metabolitos secundarios del "extracto etanólico de las hojas de *Capparis ovalifolia* (Vichayo)"

Estudio Fitoquímico del Vichayo					
Metabol. Secundarios.	Rctvo.	Resultados			
Quinonas	Borntrager	-			
Comp. fenólicos	FeCl ₃	+			
Flavonoides	Antocianinas	+			
Taninos	Gelatina	+			
Alcaloides	Dragendorff	++			
Triterpenos y Esteroides	Liebermann	-			
	Burchard				
Mucilagos		-			

Donde:

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

Interpretación:

En la tabla 1, se observan los resultados obtenidos en el estudio fitoquímico con respecto a los metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de las hojas de *Capparis ovalifolia (Vichayo)*; donde se pudieron identificar compuestos fenólicos, taninos, y alcaloides mediante las reacciones cualitativas, obteniendo resultados negativos para el resto de reacciones realizadas.

Tabla 2. Evaluación de la sensibilidad de *Escherichia coli* frente extract. etanólico de las hojas de *Capparis ovalifolia* (vichayo) al 100%, 80% y 60%

Diámetro del halo de inhibición								
						ervalo de ara la media		
	N	Media	Desviación estándar	Error estándar	Límite Superior	Límite Inferior	Mínimo	Máximo
E. E. Capparis ovalifolia - 100%	10	12,77	0,48	0,15	12,43	13,12	12,01	13,36
E. E. Capparis ovalifolia - 80%	10	10,79	0,44	0,14	10,47	11,10	10,40	11,65
E. E. Capparis ovalifolia - 60%	10	9,62	0,54	0,17	9,23	10,01	8,89	10,31
Cont. Negativo (Etanol)	10	6,19	0,28	0,09	5,99	6,39	5,91	6,61
Contr. Positivo (Ciprofloxacino)	10	25,49	0,46	0,14	25,16	25,81	24,83	26,31

Fuente: Elaboración propia.

Interpretación:

En la tabla 2, se muestra los valores de la media de halos de inhibición obtenidos de 10 medidas repetidas por cada grupo de trabajo, donde se puede apreciar los resultados de 12,77±0,48mm para el extracto etanólico de Vichayo al 100%, de 10,79±0,44mm para el extracto etanólico de Vichayo al 80% y de 9,62±0,54mm para el extracto etanólico de Vichayo al 60%, por su parte, los controles obtuvieron halos de inhibición promedio de 6,19±0,28mm (control negativo) y 25,49±0,46mm (control positivo), así mismo, se presenta los estadígrafos correspondientes para cada grupo según se presenta en tabla.

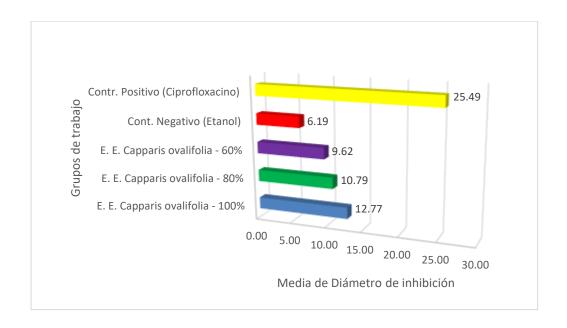


Figura 1. Evaluación de la sensibilidad de *Escherichia coli* in vitro frente al extract. etanólico de las hojas de *Capparis ovalifolia* (Vichayo) al 100%, 80% y 60%.

Fuente: Elaboración propia

Se puede apreciar en la figura 1, el tamaño de los halos de inhibición formados por por cada grupo de datos, donde al comparar los grupos experimentales con el control negativo se observa que existe sensibilidad antibacteriana, sin embargo, estos valores no superan el valor promedio obtenidos por el control positivo, siendo este último el que presenta mayor efecto antibacteriano.

Análisis estadístico de los datos:

Tabla 3. Determinación del comportamiento normal por grupo

		Shapiro	o-Wilk	
	Grupos de trabajo	Estadístico	df	Sig.
	E. E. Capparis ovalifolia - 100%	0,894	10	0,189
Diámetro (mm)	E. E. Capparis ovalifolia - 80%	0,787	10	0,090
	E. E. Capparis ovalifolia - 60%	0,885	10	0,148
	Cont. Negativo (Etanol)	0,840	10	0,074
	Contr. Positivo (Ciprofloxacino)	0,962	10	0,810

Fuente: Elaboración propia

Interpretación:

Tabla 3, La distribución normal o gaussiana se demuestra mediante el análisis de la prueba de Shapiro –Wilk para todos los grupos de datos, donde se demostró al comparar los valores de significancia obtenidos por cada grupo que existe distribución normal en todos los grupos de datos por presentar valores superiores a la significancia de 0.05 aceptada por la investigación

Tabla 4. Evaluación de las varianzas homogéneas

					Estadístico	de			p-
					Levene		df1	df2	valor
				Basado en la media		1,288	4	45	0,289
BY	hala	1	Basado en la mediana		0,820	4	45	0,519	
Diámetro	del	halo	de	Basado en la mediana con ajuste		0,820	4	35,144	0,521
inhibición		de df							
				Basado en la media recortada		1,253	4	45	0,302

Fuente: Elaboración propia

Interpretación:

Tabla 4, se muestra el análisis realizado para la determinación de las varianzas homogéneas en los grupos estudiados mediante la prueba de Levene, dicho análisis estadístico de igual manera nos permite determinar mediante el análisis del p-valor obtenido basado en la media si las varianzas de muestras los grupos de datos recolectados son homogéneas, luego de dicho análisis se confirmó que los grupos estudiados presentan varianzas homogéneas en su distribución.

Comparación del efecto inhibitorio frente a *Escherichia coli* ATCC 25922 que presenta el extracto etanólico de las hojas de *Capparis ovalifolia* (vichayo) en relación con el Ciprofloxacino

CONTRASTACIÓN DE LA HIPÓTESIS GENERAL:

H₀: El extracto etanólico de las hojas de *Capparis ovalifolia* (vichayo) no presenta mayor efecto inhibitorio frente a *Escherichia coli* ATCC 25922 en comparación con ciprofloxacino

H₁: El extracto etanólico de las hojas de *Capparis ovalifolia* (vichayo) presenta mayor efecto inhibitorio frente a *Escherichia coli* ATCC 25922 en comparación con ciprofloxacino

Tabla 5. Análisis de la varianza (ANOVA)

Diámetro del halo de inhibición

	Suma de cuadrados	df	Media al cuadrado	F	p-valor.
Entre grupos	2186,70	4,00	546,68	2720,18	0,00
Dentro de los grupos	9,04	45,00	0,20		
Total	2195,75	49,00			

Fuente: Elaboración propia

Interpretación:

La tabla 5, permite demostrar mediante la evaluación estadística de la prueba de ANOVA la similitud o igualdad del efecto inhibitorio frente a *Escherichia coli* ATCC 25922 en relación al diámetro de inhibición, en tal sentido, luego de aplicar la prueba y contrastar el p-valor obtenido, se demuestra que existe evidencia estadísticamente significativa para concluir que existen grupos con diferente efecto inhibitorio frente a *Escherichia coli* ATCC 25922 o diferente diámetro de inhibición.

Tabla 6. Determinación de subgrupos homogéneos

Diámetro de inhibición							
HSD Tukey ^a							
Grupos de trabajo N Subconjunto para alfa = 0.05						.05	
		1	2	3	4	5	
Cont. Negativo (Etanol)	10	6,19					
E. E. Capparis ovalifolia - 60%	10		9,62				
E. E. Capparis ovalifolia - 80%	10			10,79			
E. E. Capparis ovalifolia - 100%					12,77		
Contr. Positivo (Ciprofloxacino)	10					25,49	
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	

[&]quot;Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos".

Fuente: Elaboración propia

Interpretación:

La determinación de grupos homogéneos se realizó empleando la prueba estadística de Tukey, que permite integrar a los grupos en columnas correspondiendo a cada columna un mismo o similar efecto o halo de inhibición, en tal sentido, de la tabla 6, podemos observar que no existe grupos con efecto similar o igual, siendo estos estadísticamente diferentes, este estadístico demuestra que existe diferencia entre grupos de los extractos de vichayo y el control negativo, demostrando la existencia de la sensibilidad que presenta *Escherichia coli* a estos extractos etanólicos, así mismo, esta sensibilidad es mayor al ciprofloxacino, comparado con el resto de los grupos analizados.

<u>Decisión</u>: Se acepta la hipótesis H₁ y se rechaza H₀, lo que confirma que el extracto etanólico de las hojas de *Capparis ovalifolia* (vichayo) presenta efecto inhibitorio frente a *Escherichia coli* ATCC 25922 pero este no es mayor que el obtenido por el ciprofloxacino.

a. "Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 10,000"

Tabla 7. Sensibilidad antibacteriana de *Escherichia coli* ATCC 25922 frente a los grupos de tratamiento - Duraffourd

Tratamiento	Sensibilidad nula <u>≤</u> 8 mm	Sensible 8–14 mm	Muy sensible 15-20 mm	Sumamente sensible > 20 mm
Cont. Negativo (Etanol)	6,19			
E. E. Capparis ovalifolia - 60%		9,62		
E. E. Capparis ovalifolia - 80%		10,79		
E. E. Capparis ovalifolia - 100%		12,77		
Contr. Positivo (Ciprofloxacino)				25,49

Interpretación:

En la tabla 7, se evalúa la sensibilidad de *Escherichia coli* ATCC 25922, frente a los grupos de trabajo tanto experimentales como control, se observa según esta escala que presenta sensiblidad nula para el control negativo (etanol), presenta ser sensible a los extractos de vichayo al 60%, 80% y 100%, y presentó ser sumamente sensible al control positivo (ciprofloxacino).

IV. DISCUSIÓN

IV.1. Discusión de resultados

En la presente investigación se evaluó el efecto inhibitorio que posee el extracto etanólico de las hojas de *Capparis ovalifolia* (Vichayo) frente a cultivos en placas Petri de *Escherichia coli* ATCC 25922 empleando el método de difusión en disco para poder determinar mediante la medición de los halos de inhibición el efecto inhibitorio encontrado por parte de esta planta, comparado con los grupos control, los resultados encontrados en esta investigación se discuten a continuación.

Los metabolitos encontrados en el extracto etanólico de las hojas de Capparis ovalifolia (Vichayo) mediante el estudio fitoquímico, determinó la presencia de compuestos fenólicos, flavonoides, taninos, y alcaloides, tal como se observa en los estudios realizados por Zhang H, Ma Z. (2018) donde al analizar los mediante estudio fitoquímico, los metabolitos presentes en los extractos, donde encontró flavonoides, y alcaloides entre otros, este autor de la misma manera indica que los metabolitos presentes en los extractos pueden ser importantes para la salud como cardioprotector versátil, reductor del colesterol, anticancerígeno y antiinflamatorio

Por otro lado, la evaluación de la sensibilidad de *Escherichia coli* ATCC 25922 in vitro frente al extracto etanólico de las hojas de Capparis ovalifolia (vichayo) al 100%, 80% y 60% se valoró mediante la formación del halo de inhibición, donde se logró halos promedio de 12,77+0,48mm para el extracto etanólico de Vichayo al 100%, de 10,79+0,44mm para el extracto etanólico de Vichayo al 80% y de 9,62+0,54mm para el extracto etanólico de Vichayo al 60%, por su parte, los grupos control obtuvieron halos de inhibición promedio de 6,19+0,28mm (control negativo) y 25,49+0,46mm (control positivo). Así mismo, se evaluó mediante análisis estadístico paramétrico las diferencias entre las medias de los halos de inhibición de los grupos de trabajo mediante la prueba de ANOVA, obteniendo como resultados diferencia estadísticamente significativa con un nivel de

significancia de 0.05.

Por otro lado, Vasquez A, Barturen F (2021), evaluo el efecto antibacteriano de *Capparis ovalifolia* (Vichayo) frente a *Staphylococcus aureus* mediante el método de difusión en pozo, obteniendo halos de inihibicion para el 100% fue de 13.32mm para el 75% de 11,23mm y para el 50% de 9.58mm; lo que muestra un efecto leve de esta planta, similar a los encontrados en nuestro estudio, cabe resaltar aun asi, que se trabajaron sobre dos bacterias diferentes mostrando resultados similares.

Así mismo, Gull T, et al (2015), mediante su investigación demostró que *Capparis spinosa* y *Capparis decidua* inhiben el crecimiento de crecimiento de cuatro bacterias *Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Bacillus subtilis y Pasteurella multocida* con halos de inhibición frente a *Escherichia coli* de los extractos metanólicos de raíces y brotes de C. decidua (29.1mm y 26.7 mm, respectivamente), similares resultados fueron los encontrados por Mahboubi M, (2015), en bacterias y hongos que infectan al ser humano, sin embargo, no se demostró actividad antibacteriana frente a *Pseudomonas aeruginosa*.

La prueba de Tukey aplicada sirvió para confirmar las diferencias entre los grupos de trabajo mediante la comparación de los halos de inhibición donde se observó diferencias significativas entre los grupos experimentales y control negativo, confirmando el efecto inhibitorio del extracto, así mismo, se contrasto la hipótesis de comparación del efecto inhibitorio de los extractos frente al ciprofloxacino, observando que el ciprofloxacino posee mayor efecto inhibitorio que los extractos etanólicos de las hojas de Capparis ovalifolia (vichayo).

En razón a lo antes mencionado y los resultados obtenidos por otros diferentes autores, con respecto al poder inhibitorio de los extractos de las hojas de *Capparis ovalifolia* (vichayo) se evidencia un leve efecto antibacteriano contra diferentes bacterias debido a los

metabolitos secundarios que poseen y le confieren propiedades antimicrobianas.

IV.2. Conclusiones

- Se identificaron los metabolitos secundarios presentes en extracto etanólico de las hojas de *Capparis ovalifolia* (vichayo) los cuales fueron compuestos fenólicos, taninos y alcaloides.
- Escherichia coli ATCC 25922 presenta sensibilidad in vitro frente al extracto etanólico de las hojas de Capparis ovalifolia (vichayo) al 100%, con un halo de inhibición de 12,77+0,48mm
- Escherichia coli ATCC 25922 presenta sensibilidad in vitro frente al extracto etanólico de las hojas de *Capparis ovalifolia* (vichayo) al 80%, con un halo de inhibición de 10,79±0,44mm.
- Escherichia coli ATCC 25922 presenta sensibilidad in vitro frente al extracto etanólico de las hojas de Capparis ovalifolia (vichayo) al 80%, con un halo de inhibición de 9,62±0,54mm.
- Al comparar el efecto inhibitorio frente a Escherichia coli ATCC
 25922 que presenta el extracto etanólico de las hojas de Capparis ovalifolia (vichayo) este fue menor que el Ciprofloxacino.

IV.3. Recomendaciones

- Capparis ovalifolia (vichayo) es una planta común y que crece de manera silvestre en la zona del departamento de Lambayeque, sin embargo, existen pocos estudios sobre esta especie, por lo que se recomienda realizar investigaciones sobre efectos in vitro con esta planta.
- A las instituciones de salud, promover el uso de plantas medicinales y las investigaciones a través de las unidades de investigación.

- Realizar identificaciones de los tipos de metabolitos presentes en diferentes tipos de extracto de esta especie
- Realizar estudios de toxicidad de los extractos de esta planta para evaluar el riesgo en los seres vivos.

V. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Rojas N, Chaves E, García F. Bacteriología diagnóstica [Internet]. Universidad de Costa Rica. Costa Rica: Facultad de Microbiología; 2015. Disponible en: https://es.scribd.com/document/238053742/BACTERIOLOGIA-DIAGNOSTICA
- Ibañez J, Salazar J, Loaiza S, Hernández J. Panorama de resistencia antimicrobiana de los aislamientos urinarios de pacientes adultos en los servicios de urgencias de Manizales, Caldas, durante el 2018. Infectio [Internet]. 2020;24(3):149. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-93922020000300149
- 3. OMS. Resistencia a los antibióticos [Internet]. Organizacion Mundial de la Salud. 2020. Disponible en: https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/resistencia-a-los-antibióticos
- 4. Informe de la OMS señala que los niños menores de 5 años representan casi un tercio de las muertes por enfermedades de transmisión alimentaria [Internet]. [citado 28 de enero de 2020]. Disponible en: https://www.who.int/es/news-room/detail/03-12-2015who-s-first-ever-global-estimates-of-foodborne-diseases-find-children-under-5-accountfor-almost-one-third-of-deaths
- 5. OMS. OMS: cada año mueren 420.000 personas por ingerir alimentos contaminados | El Diario de Salud [Internet]. Organización Mundial de la Salud. [citado 7 de mayo de 2022]. Disponible en: https://eldiariodesalud.com/internacional/oms-cada-ano-mueren-420000-personas-por-ingerir-alimentos-contaminados
- 6. 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. Rev Peru Med Exp Salud Publica [Internet]. 2019;36(3):459-63. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/pdf/rins/v36n3/1726-4642-rins-36-03-459.pdf
- 7. Yacarini A, Arriaga E, Alvarado R, Fupuy J. Genes de virulencia de Escherichia coli detectados en muestras diarreicas de niños de la Región Lambayeque Perú. Horiz Médico [Internet]. 15 de marzo de 2019 [citado 25 de abril de 2022];19(1):7-12. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1727-558X2019000100002&lng=es&nrm=iso&tlng=es
- 8. Romo M, Rosina M. Composición florística del hábitat de la cortarrama peruana (Phytotoma raimondii). Rev Peru Biol. 2015;19(3):261-6.

- Camacho M. Caracterización Estructural De Metabolitos Secundarios De Capparis
 Ovalifolia [Internet]. 2014. Disponible en:
 https://tesis.pucp.edu.pe/repositorio/bitstream/handle/20.500.12404/1461/CAMACHO_
 HUERTA_MADELAINE_METABOLITOS_CAPPORIS_OVALIFOLIA.pdf?sequence=1&i
 sAllowed=y
- Düzgübes N. Medical Microbiology and Inmunology for Dentistry. Vol. 53, Journal of Chemical Information and Modeling. 2019. 1689-1699 p.
- Primer Aislamiento de E. Coli en el Peru [Internet]. [citado 24 de noviembre de 2020].
 Disponible en: https://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/medicina_experimental/v18_n1-2/aislamiento_escherichia.htm
- 12. Taroco R. Seija V. Vignoli R. Métodos de estudio de la sensibilidad antibiótica. En: Temas de Bacterología y Virología Médica [Internet]. 2017. p. 663-71. Disponible en: http://higiene.edu.uy/cefa/2008/BacteCEFA36.pdf
- 13. Zhang H, Ma Z. Phytochemical and pharmacological properties of capparis spinosa as a medicinal plant. Nutrients. 2018;10(2):1-14.
- Mansour R, Jilani I, Bouaziz M, Gargouri B, Elloumi N, Attia H, et al. Phenolic contents and antioxidant activity of ethanolic extract of Capparis spinosa. Cytotechnology 2014 681 [Internet]. 7 de noviembre de 2016 [citado 3 de diciembre de 2022];68(1):135-42.
 Disponible en: https://link.springer.com/article/10.1007/s10616-014-9764-6
- 15. Gull T, Bhatti I, Jamil A. Antibacterial Potential of Capparis spinosa and Capparis decidua Extracts Special issue on «Sustainable Approaches for Plant Conservation under Emerging Pollutants» in MDPI-Sustainability (IF = 3.251) View project Photodegradation of RB5 dye by using hybr. Artic Int J Agric Biol [Internet]. 2015 [citado 3 de diciembre de 2022]; Disponible en: https://www.researchgate.net/profile/Amer-Jamil/publication/280256191_Antibacterial_Potential_of_Capparis_spinosa_and_Capparis_decidua_Extracts/links/5b2d51bfaca2720785db1812/Antibacterial-Potential-of-Capparis-spinosa-and-Capparis-decidua-Extracts.pdf
- 16. Mahboubi M, Mahboubi A. Antimicrobial activity of Capparis spinosa as its usages in traditional medicine. Herba Pol. 2015;60(1):39-48.
- 17. Vásquez A, Barturen F. Efecto antibacteriano del aceite y extracto etanólico de Capparis ovalifolia (Vichayo) frente a Staphylococcus aureus [Internet]. Universidad Privada de Roosevelt; 2021. Disponible en:

- https://repositorio.uroosevelt.edu.pe/handle/ROOSEVELT/707
- 18. Hernández R, Fernández C, Baptista P. Metodología de la Investigación [Internet]. 6ta ed. México, D.F.: Mc Graw Hill; 2014. Disponible en: https://periodicooficial.jalisco.gob.mx/sites/periodicooficial.jalisco.gob.mx/files/metodologia_de_la_investigacion_-_roberto_hernandez_sampieri.pdf
- Anonimo. El diseño de investigación experimental [Internet]. 2016. Disponible en: http://histologia.ugr.es/pdf/Metodologia_III.pdf
- 20. Ruiz J, Rúveda M, Grando F. Screening fitoquímico y estudio de la actividad antioxidante de Moringa oleífera. 2020.
- 21. Enríquezl A, Prieto E. Estudio Farmacognóstico y Fitoquímico del rizoma de Zingiber officinale Roscoe «Jengibre» [Internet]. Universidad Nacional de Trujillo; 2007. Disponible en: file:///C:/Users/Olga/Desktop/UMA III/metodo/jengibre.pdf
- Alvarez B. EFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE Prosopis pallida SOBRE Porphyromona gingivalis. Universidad Central del Ecuador; 2020.

Anexo 1. Instrumento de recolección de datos

EFECTO INHIBITORIO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS HOJAS DE *Capparis ovalifolia* (VICHAYO) FRENTE A *Escherichia coli* ATCC 25922, *IN VITRO*

	GRUPOS EXPERIMENTALES			GRUPOS CONTROL		
Número de placas	100%	80%	60%	Control Negativo Etanol 96°	Control positivo ciprofloxacino	
Placa N°01	12,05	10,97	8,89	5,95	25,73	
Placa N°02	13,09	10,53	10,16	6,29	26,04	
Placa N°03	12,01	11,65	9,40	5,91	26,31	
Placa N°04	13,21	10,59	9,58	6,28	25,56	
Placa N°05	12,98	10,71	10,15	5,98	24,83	
Placa N°06	13,36	10,56	9,02	6,46	25,56	
Placas N° 07	12,77	10,46	10,22	6,61	25,14	
Placa N° 08	13,07	10,40	9,28	5,94	25,47	
Placa N° 09	12,34	10,50	9,20	5,95	25,16	
Placa N° 10	12,85	11,48	10,31	6,55	25,08	

Anexo 2. Marcha fitoquímica del extracto etanólico

IDENTIFICACION DE METABOLITOS SECUNDARIOS			
Metabolitos Secundarios	Reactivos	Resultado	
Quinonas	Borntrager		
Compuestos fenólicos	FeCl ₃		
Flavonoides	Shinoda		
Antocianinas	NaOH 10%		
Taninos	Gelatina		
Taninos	Gelatina Sal		
Alcaloides	Dragendorff		
Alcaloides	Wagner		
Alcaloides	Mayer		
Triterpenos y Esteroides	Liebermann		
	Burchard		
Lactonas α, β insaturadas	Baljet		
Azucares Reductores	Benedict		
Azucares Reductores	Fehling		
Saponinas	Espuma		

Donde:

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

Anexo 3. Matriz de consistencia

Formulación del problema	Objetivos	Hipótesis
Problema General	Objetivo General	Hipótesis General
¿Qué efecto inhibitorio presenta el extracto etanólico de las hojas de <i>Capparis ovalifolia</i> (vichayo) frente a Escherichia coli ATCC 25922, in vitro?	Demostrar el efecto inhibitorio que presenta el extracto etanólico de las hojas de <i>Capparis ovalifolia</i> (vichayo) frente a Escherichia coli ATCC 25922 in vitro	El extracto etanólico de las hojas de Capparis ovalifolia (vichayo) presentan efecto inhibitorio frente a Escherichia coli ATCC 25922, in vitro
Problemas Específicos	Objetivos Específicos	Hipótesis Específicas
¿Cuál será la sensibilidad de Escherichia coli ATCC 25922, in vitro frente al extracto etanólico de las hojas de Capparis ovalifolia (vichayo) al 100%?	Evaluar la sensibilidad de <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 in vitro frente al extracto etanólico de las hojas de <i>Capparis ovalifolia</i> (vichayo) al 100%	Escherichia coli ATCC 25922 presenta sensibilidad in vitro frente al efecto inhibitorio del extracto etanólico de las hojas de Capparis ovalifolia (vichayo) al 100%
¿Cuál será la sensibilidad de <i>Escherichia</i> coli ATCC 25922, in vitro frente al extracto etanólico de las hojas de <i>Capparis ovalifolia</i> (vichayo) al 80%?	Evaluar la sensibilidad de <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 in vitro frente al extracto etanólico de las hojas de <i>Capparis ovalifolia</i> (vichayo) al 80%	Escherichia coli ATCC 25922 presenta sensibilidad in vitro frente al efecto inhibitorio del extracto etanólico de las hojas de Capparis ovalifolia (vichayo) al 80%
¿Cuál será la sensibilidad de Escherichia coli ATCC 25922, in vitro frente al extracto etanólico de las hojas de Capparis ovalifolia (vichayo) al 60%?	Evaluar la sensibilidad de <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 in vitro frente al extracto etanólico de las hojas de <i>Capparis ovalifolia</i> (vichayo) al 60%	Escherichia coli ATCC 25922 presenta sensibilidad in vitro frente al efecto inhibitorio del extracto etanólico de las hojas de Capparis ovalifolia (vichayo) al 60%
¿Qué efecto inhibitorio frente a Escherichia coli ATCC 25922, presenta el extracto etanólico de las hojas de Capparis ovalifolia (vichayo) en comparación con la Ciprofloxacino?	Comparar el efecto inhibitorio frente a Escherichia coli ATCC 25922 que presenta el extracto etanólico de las hojas de Capparis ovalifolia (vichayo) en relación con la Ciprofloxacino	El extracto etanólico de las hojas de Capparis ovalifolia (vichayo) presenta mayor efecto inhibitorio frente a Escherichia coli ATCC 25922 en comparación con ciprofloxacino

Anexo 4. Operacionalización de las variables

VARIABLES	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	DIMENSIONES	INDICADORES	ESCALA DE MEDICIÓN	N° DE ÍTEMS	VALOR
de las hojas de	Producto de consistencia pastosa obtenida de las hojas de la planta y que presenta sustancias activas de la misma	con etanol	Concentración	Porcentaje	Razón	3	100 75 50
efecto inhibitorio frente a <i>Escherichia</i> <i>coli</i> ATCC 25922			Halo de inhibición	Diámetro	Razón	4	≤ 8mm (-) 8mm-14mm (+) > 14 mm-20mm (++) > 20mm : (+++)

Anexo 5. Certificación Botánica

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 "VICHAYO" proporcionada por los Bachilleres, MARLENY ALAMO VALDERA y VICENTA VALDIVIA RODAS, Tesistas de la Universidad María Auxiliadora, ha sido estudiada científicamente y determinada como <u>Capparis ovalifolia</u> y de acuerdo al Sistema de Clasificación de Cronquist 1981, se ubica en las siguientes categorías:

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Subclase: Dilleniidae

Orden: Capparales

Familia: Capparaceae

Género: Capparis

Especie: Capparis ovalifolia Ruiz & Pav. Ex DC

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

Lima, 16 Agosto del 2022

Bigo. Hamilton Beltrán
wiben Wilmer Beltran Santiago
Finlago - Botánico

40

Anexo 6. Certificado de Análisis de Escherichia coli ATCC 25922™



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

Specifications Expiration Date: 2024/3/31 Release Information: Quality Control Technologist: Mary L Bowman Microorganism Name: Escherichia coli Catalog Number: 0335 Release Date: 2022/4/8 Lot Number: 335-506** Reference Number: ATCC® 25922™* Purity: Pure Passage from Reference: 3 Performance Medium: Macroscopic Features: 2 colony types, both are gray & beta hemolytic: one is circular to irregular, SBAP convex, slightly erose edge & smooth; other is larger, irregular, low convex, erose edge & rough Microscopic Features: Gram negative straight rod Gram Stain (1) Other Features/ Challenges: Results ID System: MALDI-TOF (1) (1) Oxidase (Kovacs): negative See attached ID System results document. 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 mog - Disk Susceptibility): 23 - 29 Amanda Kuperus Quality Control Manager AUTHORIZED SIGNATURE "'Disclaimer: The last digit(s) of the lot number appearing on the product label and packing slip are merely a packaging event number. The lot number displayed on this certificate is the actual base lot number. Note for Vitek®: Although the Vitek® panel uses many conventional tests, the unique environment of the card, combined with the short incubation period, may produce results that differ from published results obtained by other methods. Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information. individual products are traceable to a recognized culture collection. ACCREDITED (*) The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC. Microbiologics, Inc. is Scensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures. ATCC Licensed ACCREDITED TESTING CERT #2655.01 (1) These tests are accredited to ISO/IEC 17025:2005.



DOC.286



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	identification (+)		
0.00 - 1.69	No Organism Identification Possesse	(-)	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 highconfidence 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: Applied MSP Library(ies): 2020-03-27T11:51:17.542 KLH

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. Fotografías del desarrollo del estudio

Figura 2. Obtención de la muestra en estudio









Figura 3. Acondicionamiento de la especie vegetal en estudio





Figura 4. Limpieza y desinfectación de la especie vegetal





Figura 5. Secado a medio ambiente bajo sombra





Figura 6. Trituración y pulverización de la especie en estudio





Figura 7. Tamizado del polvo obtenido de las hojas de Vichayo









Figura 8. Proceso de maceración de la especie en estudio





Figura 9. Filtrado y evaporado del macerado









Figura 10. Obtención de los grupos de estudio (extractos)







Figura 11. Reactivación de la bacteria de la cepa en estudio





Figura 12. Preparación y sembrado del cultivo en placas







Figura 13. Elaboración de pocitos en placas



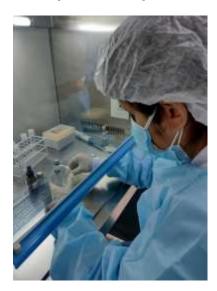


Figura 14. Colocación del extracto en placa







Figura 15. Incubación de cepas en placa





Figura: 16. Medición de halos – efecto inhibitorio



