



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

EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DEL  
EXTRACTO HIDROALCOHOLICO DE LA RAIZ DE  
*Paranephelium uniflorus poepp & Endl.* (CHAWI) FRENTE A  
CEPAS ATCC DE *Escherichia coli* 25922 y *Staphylococcus*  
*aureus* 25923

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE QUIMICO  
FARMACEUTICO

#### AUTORES

Bach. HUISA QUISPE, CARLOS MARCO

<https://orcid.org/0009-0007-9791-5192>

Bach. OSCCO BUSTÍOS, ROSSMARY JACKELINE

<https://orcid.org/0009-0000-1701-1628>

#### ASESOR

Mg. PINEDA PÉREZ, NEUMAN MARIO

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

Lima – Perú

2023

## DECLARACIÓN JURADA DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD

Yo, **Huisa Quispe, Carlos\_Marco**, con DNI **74132593**, en mi condición de autor(a) de la tesis/ trabajo de investigación/ trabajo académico) presentada para optar el presentada para optar el TITULO PROFESIONAL de **Químico Farmacéutico**, (grado o título profesional que corresponda) de título **“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DEL EXTRACTO HIDROALCOHOLICO DE LA RAIZ DE *Paranephelius uniflorus poepp & Endl.* (CHAWI) FRENTE A CEPAS ATCC DE *Escherichia coli* 25922 y *Staphylococcus aureus* 25923.”** **AUTORIZO** a la Universidad María Auxiliadora (UMA) para publicar de manera indefinida en el repositorio institucional, 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.

Indicar que dicho documento es **ORIGINAL** con un porcentaje de similitud **20 %** 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.

Conforme a lo indicado firmo el presente documento dando conformidad a lo expuesto.

Lima, **13 de Marzo de 2023**.



(Nombre y Firma)

Firma del autor:

Huisa Quispe, Carlos Marco

DNI: 74132593



(Nombre y Firma)

Firma del Asesor:

Mg. Pineda Pérez, Mario Neuman

DNI: 09410930

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

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

## DECLARACIÓN JURADA DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD

Yo, **Oscoco Bustíos, Rossmory Jackeline**, con DNI **46610907**, en mi condición de autor(a) de la tesis/ trabajo de investigación/ trabajo académico) presentada para optar el presentada para optar el TITULO PROFESIONAL de **Químico Farmacéutico**, (grado o título profesional que corresponda) de título **“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DEL EXTRACTO HIDROALCOHOLICO DE LA RAIZ DE *Paranephelius uniflorus poepp & Endl.* (CHAWI) FRENTE A CEPAS ATCC DE *Escherichia coli 25922* y *Staphylococcus aureus 25923.*”** **AUTORIZO** a la Universidad María Auxiliadora (UMA) para publicar de manera indefinida en el repositorio institucional, 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.

Indicar que dicho documento es **ORIGINAL** con un porcentaje de similitud **20 %** 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.

Conforme a lo indicado firmo el presente documento dando conformidad a lo expuesto.

Lima, **13** de **Marzo** de **2023**.



(Nombre y Firma)

Firma del autor:

Oscoco Bustíos, Rossmory Jackeline

DNI: 46610907



(Nombre y Firma)

Firma del Asesor:

Mg. Pineda Pérez, Mario Neuman

DNI: 09410930

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

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.

## INFORME DE ORIGINALIDAD-TURNITIN

### TESIS EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA

#### INFORME DE ORIGINALIDAD

<b>20%</b>	<b>19%</b>	<b>4%</b>	<b>4%</b>
INDICE DE SIMILITUD	FUENTES DE INTERNET	PUBLICACIONES	TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

#### FUENTES PRIMARIAS

<b>1</b>	<b>repositorio.uma.edu.pe</b> Fuente de Internet	<b>8%</b>
<b>2</b>	<b>hdl.handle.net</b> Fuente de Internet	<b>4%</b>
<b>3</b>	<b>www.revplantasmedicinales.sld.cu</b> Fuente de Internet	<b>2%</b>
<b>4</b>	<b>repositorio.upads.edu.pe</b> Fuente de Internet	<b>2%</b>
<b>5</b>	<b>Submitted to Universidad Alas Peruanas</b> Trabajo del estudiante	<b>1%</b>
<b>6</b>	<b>Submitted to Universidad Maria Auxiliadora SAC</b> Trabajo del estudiante	<b>1%</b>
<b>7</b>	<b>repositorio.uigv.edu.pe</b> Fuente de Internet	<b>1%</b>
<b>8</b>	<b>Submitted to Universidad Internacional de la Rioja</b> Trabajo del estudiante	<b>1%</b>



www.scielo.org.bo  
Fuente de Internet

1 %

---

Excluir citas      Activo  
Excluir bibliografía      Activo

Excluir coincidencias < 1%

## **DEDICATORIA**

A Dios nuestro señor, por guiarme, cuidarme y sobre todo por darme la fuerza en los momentos más difíciles.

A mis padres, Leoncio y Basilia por el apoyo incondicional para el logro de mis objetivos y metas a cumplir a pesar de los obstáculos.

A mi familia y en especial a mi cuñado Walter, y a mi querida hermana Lenny, que siempre me acompañaron en todo mi progreso, por sus consejos y sus ánimos que me motivaron a cumplir mis metas.

BACH. HUISA QUISPE, CARLOS MARCO

A Dios, por darme fortaleza, guiarme y protegerme en todo momento.

A mi papá Guillermo, quien fue precursor principal de este proyecto de vida.

A mis padres Teresa y Victor, por su amor, paciencia y apoyo incondicional.

A mi hijo Dieguito, por ser el motor y motivo en mi vida.

BACH. OSCCO BUSTÍOS, ROSSMARY JACKELINE

## **AGRADECIMIENTO**

A Dios nuestro señor, por darnos salud y fortaleza por encaminar nuestros pasos por el camino del bien en todo este proceso de formación profesional, por ayudarnos a superar los retos de cada día.

A la Universidad María Auxiliadora, Facultad de Ciencias de la Salud por su gran formación académica y profesional.

A nuestro asesor, que ha contribuido en nuestra investigación, por su tiempo y dedicación, asesoramiento, consejos, orientación y apoyo con el cual fue posible el desarrollo de esta tesis.

## ÍNDICE GENERAL

	Páginas
<b>RESUMEN</b> .....	12
<b>ABSTRACT</b> .....	13
<b>I. INTRODUCCIÓN</b> .....	14
<b>II. MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	20
II.1. Enfoque y diseño de la investigación .....	20
II.2. Población, muestra y muestreo .....	20
II.3. Variables de investigación .....	22
II.4. Técnicas e instrumentos para la recolección de datos .....	22
II.5. Plan metodológico para la recolección de datos .....	23
II.6. Procesamiento del análisis estadístico.....	28
II.7. Aspectos Éticos.....	28
<b>III. RESULTADOS</b> .....	29
<b>IV. DISCUSIÓN</b> .....	42
IV.1. Discusión de resultados .....	42
IV.2. Conclusiones.....	45
IV.3. Recomendaciones.....	46
<b>REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA</b> .....	47
<b>ANEXOS</b> .....	<b>ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.</b>



## INDICE DE TABLAS

<b>TABLA 1.</b> SOLUBILIDAD DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE <i>PARANEPHELIUS UNIFLORUS</i> POEPP & ENDL. ....	29
<b>TABLA 2.</b> DETERMINACIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS EN EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE <i>PARANEPHELIUS UNIFLORUS</i> POEPP & ENDL. ....	29
<b>TABLA 3.</b> EFECTO DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE <i>PARANEPHELIUS UNIFLORUS</i> POEPP & ENDL. FRENTE A <i>E. COLI</i> .....	30
<b>TABLA 4.</b> PRUEBA DE COMPARACIONES MÚLTIPLES DE BONFERRONI PARA EL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE <i>PARANEPHELIUS UNIFLORUS</i> POEPP & ENDL. FRENTE A <i>E. COLI</i> .....	31
<b>TABLA 5.</b> DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE <i>PARANEPHELIUS UNIFLORUS</i> POEPP & ENDL. FRENTE A <i>E. COLI</i> .....	34
<b>TABLA 6.</b> DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA BACTERICIDA DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE <i>PARANEPHELIUS UNIFLORUS</i> POEPP & ENDL. FRENTE A <i>E. COLI</i> .....	35
<b>TABLA 7.</b> EFECTO DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE <i>PARANEPHELIUS UNIFLORUS</i> POEPP & ENDL. FRENTE A <i>S. AUREUS</i> ...	36
<b>TABLA 8.</b> PRUEBA DE COMPARACIONES MÚLTIPLES DE BONFERRONI PARA EL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE <i>PARANEPHELIUS UNIFLORUS</i> POEPP & ENDL. FRENTE A <i>S. AUREUS</i> .....	37
<b>TABLA 9.</b> DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE <i>PARANEPHELIUS UNIFLORUS</i> POEPP & ENDL. FRENTE A <i>S. AUREUS</i> .....	40
<b>TABLA 10.</b> DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA BACTERICIDA DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE <i>PARANEPHELIUS UNIFLORUS</i> POEPP & ENDL. FRENTE A <i>S. AUREUS</i> .....	41

## INDICE DE FIGURAS

<b>FIGURA 1:</b> LUGAR DE RECOLECCIÓN DISTRITO DE SICUANI, .....	21
<b>FIGURA 2.</b> RECOLECCIÓN DE LA ESPECIE VEGETAL <i>PARANEPHELIUS UNIFLORUS</i> POEPP & ENDL. ....	66
<b>FIGURA 3</b> EXTRACTO HIDROALCOLICO DE <i>PARANEPHELIUS UNIFLORUS</i> POEPP & ENDL. ....	67
<b>FIGURA 4.</b> PRUEBA DE SOLUVIDAD DE EXTRACTO HIDROALCOHOLICO DE <i>PARANEPHELIUS UNIFLORUS</i> POEPP & ENDL. ....	68
<b>FIGURA 5.</b> MARCHA FOTOQUÍMICA DEL EXTRACTO HIDROALCOHOLICO DE <i>PARANEPHELIUS UNIFLORUS</i> POEPP & ENDL. ....	68
<b>FIGURA 6.</b> PREPARACIÓN DE LOS MEDIOS DE CULTIVO .....	69
<b>FIGURA 7.</b> ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DEL EXTRACTO EXTRACTO HIDROALCOHOLICO DE <i>PARANEPHELIUS UNIFLORUS</i> POEPP & ENDL. FRENTE A CEPAS DE <i>STAPHYLOCOCCUS AUREUS</i> .....	70
<b>FIGURA 8.</b> ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DEL EXTRACTO EXTRACTO HIDROALCOHOLICO DE <i>PARANEPHELIUS UNIFLORUS</i> POEPP & ENDL. FRENTE A CEPAS DE <i>ESCHERICHIA COLI</i> .....	71
<b>FIGURA 9.</b> CONTROL POSITIVO (CIPROFLOXACINO 5UG ) FRENTE A CEPAS DE <i>ESCHERICHIA COLI</i> Y <i>STAPHYLOCOCCUS AUREUS</i> .....	72

## INDICE DE ANEXOS

<b>Anexo A:</b> matriz de consistencia .....	53
<b>Anexo B:</b> operacionalización de las variables .....	54
<b>Anexo C:</b> certificado de clasificación taxonómica .....	55
<b>Anexo D:</b> carta de aceptación .....	56
<b>Anexo E:</b> certificado de calidad de staphylococcus aureus atcc 2593 y de escherichia coli atcc 25922 .....	58
<b>Anexo F:</b> halos de sensibilidad para los tratamientos del extracto hidroalcohólico de <i>paranephelius uniflorus</i> poepp & endl. Frente a <i>e. Coli</i> 25922.....	62
<b>Anexo G:</b> prueba de normalidad y homocedasticidad para los tratamientos de del extracto hidroalcohólico de <i>paranephelius uniflorus</i> poepp & endl. Frente a <i>e. Coli</i> 25922.....	63
<b>Anexo H:</b> halos de sensibilidad para los tratamientos del extracto hidroalcohólico de <i>paranephelius uniflorus</i> poepp & endl. Frente a <i>s. Aureus</i> 25923.....	64
<b>Anexo I:</b> prueba de normalidad y homocedasticidad para los tratamientos del extracto hidroalcohólico de <i>paranephelius uniflorus</i> poepp & endl. Frente a <i>s. Aureus</i> 25923.....	65
<b>Anexo J:</b> evidencias del trabajo de campo .....	66

## RESUMEN

**Objetivo:** Conocer el efecto antibacteriano in vitro que presenta el extracto hidroalcohólico de la raíz de *Paranephelium uniflorus poepp & Endl.* (Chawi) frente a cepas ATCC de *Escherichia coli* 25922 y *Stafilococcus aureus* 25923.

**Métodos:** Se realizó la extracción mediante maceración por 10 días, luego se realizaron las pruebas de solubilidad, tamizaje fitoquímico según Olga Lock, así como la prueba de Kirby-bauer, a las concentraciones de 5%, 10%, 20 %, 40%,60%, 80% y 100 % frente a ciprofloxacino 5 ug (control positivo).

**Resultados:** En prueba de solubilidad el extracto se disolvió en solventes polares y la prueba fitoquímica se identificó a alcaloides y taninos como metabolitos secundarios y finalmente el ensayo microbiológico a concentraciones de 20%,40%,60%,80% y 100% dieron un medida de halos de inhibición de 7.80 mm, 10 mm,13 mm,15 mm,16,50 mm para *Escherichia coli* ATCC 25922 y 7.80 mm, 10 mm,13 mm,15 mm,16,50 mm para *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.. Las estadísticas descriptivas revelaron diferencias significativas entre cada grupo experimental, aunque ninguna fue superior al control positivo.

**Conclusiones:** El extracto hidroalcohólico de la raíz de *Paranephelium uniflorus Poepp & Endl* presenta efecto antibacteriano in vitro frente a *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*.

**Palabras claves:** *Paranephelium uniflorus*, alcaloide, actividad antibacteriana.

## ABSTRACT

**Objective:** To know the in vitro antibacterial effect of the hydroalcoholic extract of the root of *Paranephelium uniflorus* poepp & Endl. (Chawi) against ATCC strains of *Escherichia coli* 25922, and *Staphylococcus aureus* 25923.

**Methods:** The extraction was carried out by maceration for 10 days, then the solubility tests, phytochemical screening according to Olga Lock, as well as the Kirby-bauer test, at concentrations of 5%, 10% 20%, 40% 80 % and 100% against ciprofloxacin 5 ug (positive control).

**Results:** In the solubility test the extract was dissolved in polar solvents and the phytochemical test was identified to alkaloids and tannins as secondary metabolites and finally the microbiological assay at concentrations of 20%,40%,60%,80% and 100% gave a measurement of inhibition halos of 7.80 mm, 10 mm,13 mm,15 mm, 16.50 mm for *Escherichia coli* ATCC 25922 and 7.80 mm, 10 mm,13 mm,15 mm,16,50 mm for *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Descriptive statistics revealed significant differences between each experimental group, although none were superior to the positive control.

**Conclusions:** The hydroalcoholic extract of the fruit of *Paranephelium uniflorus* Poepp & Endl has an in vitro antibacterial effect against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*.

**Keywords:** *Paranephelium uniflorus*, alkaloids, antibacterial activity.

## I. INTRODUCCIÓN

Las enfermedades infecciosas han sido y siguen siendo un reto para la humanidad, y a pesar de los avances científicos muchas infecciones aún no cuentan con tratamientos adecuados y efectivos, puesto que con el paso del tiempo los microorganismos causantes de estas enfermedades han desarrollado resistencia a los antibióticos, esta situación ha obligado al ser humano buscar otras alternativas naturales de tratamiento y curación, como lo son las plantas medicinales, reduciendo su resistencia y patologías. Actualmente la presencia de infecciones en la piel o tejidos epidérmico son comúnmente provocado por *Staphylococcus aureus*, y son las responsables del 90-96 % de las infecciones provocadas por esta bacteria (1) (2). La Organización Panamericana de la Salud afirma que entre grupos etarios más afectados por *Staphylococcus aureus* están los niños y ancianos, estos grupos encierran una tasa de mortalidad del 4 % de niños y ancianos; 10 % siendo los ancianos los que más ayuda galénica necesitan por la gravedad de sus cuadros clínicos y la presencia de enfermedades concomitantes (3). Otro microorganismos denominado *Escherichia coli*, tiene la capacidad de transmitir enfermedades graves a través de sus cepas, las cuales pueden aparentar ser inofensivas, otras se vuelven altamente virulentas al ser resistentes a innumerables tratamientos farmacológicos, las personas infectadas por esta bacteria pueden presentar vómitos, fiebre, cólicos y diarreas; las personas con estos síntomas generalmente se recuperan en diez días, pero si no son tratados a tiempo existe una gran probabilidad de muerte en las personas infectadas. Asimismo, la transmisión de esta bacteria es a través de los alimentos contaminados, esto es común en países de baja vigilancia sanitaria, pero en los últimos años, se han evidenciado que *Escherichia coli* está presente en aquellos países con altos estándares de reglamentación en el manejo de alimentos (4).

La presencia de *Escherichia coli* como agente causal de enfermedades diarreicas agudas (EDA) eleva las tasas de mortalidad de muerte entre 0,8 y 2 millones en niños menores de 5 años. La incidencia de EDA es alta en Latinoamérica no es ajena a estos hechos, ya que por 100,000 habitantes se presentan 110 infectados, con una tasa de mortalidad de 0.75 por cada 1000

niños menores a 5 años (4% de mortalidad infantil) (5). En Perú, a través de una investigación desarrollada por la Universidad Cayetano Heredia, demuestra que este microorganismo es uno de los principales agentes causantes de diarrea en niños, debido a que son muy heterogéneos, encontrando E. coli enteropatógena (EPEC) en un 10,9% y E. coli enteroagregativa (EAEC) en un 9,9% fueron los principales patógenos (6).

Frente a la resistencia bacteriana y los efectos secundarios causados por los antibióticos utilizados para controlar infecciones, se han utilizado desde mucho tiempo las plantas medicinales como una fuente de atención primaria, predominantemente en comunidades donde los servicios de salud y la atención de un facultativo no llega y en las zonas donde las condiciones climatológicas y tropicales favorecen la proliferación de agentes patógenos bacteriano (7). La Organización Mundial de la Salud (OMS) actualmente, estima que gran parte de población el 80 %, utiliza el conocimiento tradicional como medio de tratamiento y curación a sus dolencias, ya que están conscientes de las propiedades naturales que poseen estas plantas medicinales y su efectividad en el tratamiento de enfermedades infecciosas (8). Bajo este contexto, se ha demostrado que las plantas naturales poseen una alta capacidad de principios activos, para su utilización en la fabricación de nuevos fármacos que reaccionan de manera positiva contra ciertas enfermedades infecciosas, gracias a sus compuestos eficaces como agentes antimicrobianos (9).

Nuestro país no es ajeno a esta problemática, la falta de prevención del sistema sanitario, la cada vez más deteriorada infraestructura médica, la escasez de profesionales, la falta de información sobre enfermedades, la escasez de agua, y servicios básicos hace que sea vulnerable al ataque de patógenos, aunque se vienen desarrollando esfuerzos como los del 2018 por los 15 hospitales más importantes del país, aun el esfuerzo es insuficiente y cada año el número de pacientes por enfermedades bacterianas sigue en aumento con porcentaje elevado de muertos y de resistencia a los antibióticos (10).

El Perú presenta una gran variedad y abundancia de plantas medicinales autóctonas, que es uno de los pilares de la etnofarmacología y la medicina

tradicional desde la época Inca hasta la actualidad (11). Por lo que esta investigación pretende validar información etnobotánica reportada por las comunidades locales, o proponer alternativas de uso de las especies vegetales presentes en nuestra región andina.

Frente a esta problemática se formuló la siguiente pregunta principal de investigación.

¿Cuál es el efecto antibacteriano in vitro que presenta el extracto hidroalcohólico de la raíz de *Paranephelius uniflorus poepp & Endl.* (Chawi) frente a cepas ATCC de *Escherichia coli* 25922 y *Stafilococcus aureus* 25923?

*Escherichia coli* presenta un conjunto de cepas correspondientes a los bacilos Gram negativos, anaerobios facultativos, de la familia Enterobacteriaceae, pertenecientes a un grupo genéticamente heterogéneo, donde sus integrantes se caracterizan por ser huéspedes en el tracto gastrointestinal de muchos mamíferos, sin embargo, algunas cepas de esta especie han logrado causar enfermedades intestinales y extraintestinales (12). Las cepas que producen enfermedades entéricas, estos patógenos representa una gran preocupación a la salud pública a nivel mundial, según su capacidad virulenta y el mecanismo por el cual causan la enfermedad estas cepas se agrupan según la clasificación de Nataro y Keper en diarreogénicos y extraintestinales en el primer grupo se encuentra: *E. coli* enteropatógena (EPEC), *E. coli* enterotoxigénica (ETEC), *E. coli* enteroagregativa (EAEC), *E. coli* enteroinvasiva (EIEC), *E. coli* de adherencia difusa (DAEC) y *E. coli* productora de toxina Shiga (STEC) (13).

*Staphylococcus aureus* considerado también un patógeno de gran importancia implicado en una amplia gama de infecciones e intoxicaciones se caracteriza por poseer múltiples factores virulentos y por una alta capacidad de resistencia contra los antibióticos, este agente patógeno es considerado como una gran amenaza para la salud pública, ya que es el principal causante de graves infecciones transmitidas entre las comunidades y hospitales elevando los índices de mortalidad y morbilidad (14). Este patógeno grampositiva esférica de aproximadamente 1µm de diámetro tiene la capacidad de multiplicarse para formar racimos originando un análisis de catalasa positiva, en agar manitol



salado forman una especie de colonias amarilladas doradas y pueden llegar a ser betahemolíticas cuando son aplicadas en agar de sangre, asimismo tiene la capacidad de fermentación, convirtiendo el manitol en ácido láctico (14).

El *Staphylococcus aureus* está implicado en dar lugar a varias enfermedades que suelen pasar por intoxicaciones alimentarias, endocarditis, osteomielitis, la bacteriemia es un problema de salud pública emergente, siendo el estafilococo uno de los patógenos más variables (14).

La actividad antimicrobiana es la facultad que un compuesto presenta para lograr inhibir el crecimiento de una población bacteriana o para eliminarla y que puede expresarse cuantitativamente mediante ensayos in vitro. Se puede medir en CIM o en CBM, mediante la actividad antimicrobiana se puede comparar diferentes compuestos y demostrar su eficiencia y eficacia. (15).

El extracto hidroalcohólico es un proceso realizado a temperatura ambiente y protegido de la luz, en el cual consiste en la extracción de los metabolitos activos que se encuentran en las plantas, el procedimiento inicia con el material vegetal fraccionado y sumergido en una solución solvente formado por una mezcla de agua y alcohol etc, hasta que este penetre y disuelva las fracciones solubles, reposando por 2 a 14 días con agitación hasta el punto de disolución de las partículas solubles para posteriormente proceder al filtrado de dicha solución, se prensa el residuo y se recupera el solvente en evapor rotatorio y se obtiene el extracto (15).

Los antecedentes internacionales revisados para el desarrollo de la investigación fueron:

**Monica L, et al (2020)**, Evaluó la actividad bactericida in vitro de las semillas de *chenopodium quinoa willd.* y las hojas de *Artemisea dracuncululus L.* Se preparó un extracto metanólico y se evaluó en cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 Y *Escherichia coli* ATCC 25922. Se empleó el método de difusión en pozo y la concentración empleada fue 0.02 g/ml. Los resultados demostraron una actividad bactericida de 30,67 mm para *E. Coli* y de 32 mm para *S. aureus*, el extracto de *C. quinoa* (quinua) presentó una actividad bactericida de 28.33 mm

para *S. aureus* y de 30 mm para *E. Coli*. Ambas cepas registraron sensibilidad alta frente a cepas de *S. aureus* y *E. coli* presentaron baja sensibilidad (16).

**Vinod K, et al (2019)**, evaluaron la composición química y la actividad antibacteriana del aceite esencial de *Senecio graciliflorus* frente a *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Salmonella typhi*, dando como resultado que el aceite esencial de *Senecio graciliflorus* presentó un halo de inhibición de 8,6, 6,0, 4,2, y 3,3 mm frente a *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi* y *Pseudomonas aeruginosa* demostrando así actividad antibacteriana solo frente a una cepa (17).

**Sabry S, et al (2021)**, Evaluó el efecto *in vitro* del extracto de partes vegetales de *Senecio glaucus* frente a bacterias *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*, Se preparó los extractos metanólicos para cada parte de la planta vegetal como tallo, raíz y hoja, recolectados en diferentes zonas. Los resultados mostraron que el extracto metanólico de la raíz, tallo y hoja presentan actividad antibacteriana frente a *Escherichia coli* con halos de inhibición de 25,15 y 15 mm, sin embargo frente a *Pseudomonas aeruginosa* demostró resultados negativos de inhibición (18).

Antecedentes nacionales (3)

**Edwin S, et al (2022)**, Evaluó la actividad antibacteriana *in vitro* del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Senecio canescens* Humb. & Bonpl. Cuatrec. (wila wila) frente a cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Escherichia coli* ATCC 25922. Se determinó la actividad antibacteriana *in vitro* mediante la técnica de kirby Bauer a concentraciones de 100, 80, 60 y 40 % del extracto hidroalcohólico frente a cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Escherichia coli* ATCC 25922 utilizando como control positivo al antibiótico ciprofloxacino de 5 µg. Los resultados demostraron que el extracto hidroalcohólico en concentración de 100, 80, 60 y 40 % presentaron halo de inhibición promedio de 12,16, 9,23, 8,3 y 7,36 mm respectivamente frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 las cuales fueron comparadas con ciprofloxacino de 5 µg logrando un promedio de halo de inhibición de 38 mm; sin embargo, a la concentración del 100 % se determinó halo de inhibición promedio

de 7,2 mm frente a *Escherichia coli* ATCC 25922 comparado con el control positivo que alcanzó un promedio de halo de inhibición de 50 mm (19).

**Alonso E (2019)**, Evaluó el efecto antibacteriano in vitro del extracto acuoso de hojas de *Bidens pilosa* (cadillo) frente a *Staphylococcus aureus* por el método de Kirby-Bauer. Los resultados evidenciaron que para el grupo control, el tamaño de halo alcanzado fue de 6.0 mm, para el grupo estándar, el tamaño del halo alcanzó  $26.8 \pm 1.46$  mm, para el grupo experimental 1 el tamaño del halo alcanzo  $15.4 \pm 0.60$  mm y para el grupo experimental 2 el tamaño de halo alcanzó  $20.1 \pm 1.10$  mm (20).

**Huillca L. et al (2020)**, Evaluó el efecto antimicrobiano *in vitro* de los liposomas que fueron preparados con el extracto hidroalcohólico al 70 % de *Senecio rhizomatus* Rusby “tikllaywarmi”, se determinó la concentración mínima inhibitoria del extracto frente a *Pseudomonas aeruginosa* con un valor de 0,125 mg y el halo máximo de 17,306 mm a una concentración de 160 mg, luego se procedió a la elaboración de los liposomas utilizando componentes como fosfatidilcolina, donde fueron sometidos a diferentes pruebas y controles microbiológicos donde se demostró la ausencia de microorganismos que puedan alterar su composición, seguidamente se evaluó la actividad antibacteriana *in vitro* de los liposomas mediante el método de microdilución en caldo y la turbidez (lectura al espectrómetro UV. Visible), donde se emplearon concentraciones de 12, 25, 50, 100 y 200 mg del extracto respectivamente. Se determina que en las 5 concentraciones del extracto hidroalcohólico impidieron el desarrollo microbiano de la cepa en estudio, pero a 200 mg (7 %) y a 100 mg (11 %) obtuvieron un mejor efecto antibacteriano (22).

Luego de la siguiente revisión de los antecedentes, se planteó el siguiente objetivo principal:

Conocer el efecto antibacteriano in vitro que presenta el extracto hidroalcohólico de la raíz de *Paranephelium uniflorus* poepp & Endl. (Chawi) frente a cepas ATCC de *Escherichia coli* 25922 y *Stafilococcus aureus* 25923.

La hipótesis principal es:

El extracto hidroalcohólico de la raíz de *Paranephelium uniflorus* poepp & Endl.

(Chawi) presenta efecto antibacteriano in vitro frente a cepas ATCC de *Escherichia coli* 25922 y *Stafilococcus aureus* 25923.

El presente trabajo de investigación pretende proporcionar opciones terapéuticas en el tratamiento de infecciones producidas por *Escherichia coli* 25922 y *Stafilococcus Aureus* 25923, para contrarrestar los efectos nocivos que producen estas bacterias en humanos, de esta manera reducir costos del tratamiento, además de reducir la tasa de muertes en la población.

## II. MATERIALES Y MÉTODOS

### II.1. Enfoque y diseño de la investigación

- Cuantitativo: Porque los datos recolectados y analizados fueron servidos para presentar información numérica que puedan probar la hipótesis planteada con base en la medición numérica y el análisis estadístico de los resultados (21).
- Transversal: Porque el estudio se realizó en un periodo determinado, la medición será por única vez (22).
- Prospectivo: Porque una vez definido el inicio del estudio, se realizó un seguimiento y se recogerán los datos en el tiempo que van sucediendo.
- Experimental: Porque se manipuló intencionalmente la variable concentración del extracto etanólico de Chawi para demostrar la relación causa efecto.

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

**Población:** Estuvo conformada por 5 kg de raíz de *Paranephelius uniflorus* poepp & Endl, el cual se recolectó en el distrito de Sicuani, Provincia de Canchis, departamento de Cuzco a una altura de 3550 m.s.n.m. y a una geolocalización de 14°16'12.14" S; 71°13'53.67" W. Para la recolección de las raíces de *Paranephelius uniflorus* poepp & Endl (Chawi), se usó implementos de bioseguridad, las raíces recolectadas fueron colocadas sobre papel Kraft y se acondicionó en cajas y fueron enviadas a la ciudad de Arequipa.

La identificación de la especie vegetal fue confirmada por un profesional biólogo con experiencia en identificación taxonómica en la Universidad Nacional de San Agustín (UNSA) que emitió un certificado en conformidad a la identificación de la especie vegetal.



**Figura 1: Lugar de recolección distrito de Sicuani, Provincia de Canchis, departamento de Cuzco a una altura de 3550 m.s.n.m.**

**Muestra:** Se empleó 300 gramos de raíces seleccionadas y desecadas de *Paranephelius uniflorus* Poepp & Endl. (Chawi), con los que se procedió a realizar la extracción.

**Identificación de la unidad de análisis**

La unidad de estudios estuvo comprendida por las raíces de *Paranephelius uniflorus* Poepp & Endl. (Chawi), recolectadas en el distrito de Sicuani, la cual está geolocalizada por GPS: 14° 16' 9.98" Sur, 71° 13' 34" Oeste; se encuentra a unos 3 550 msnm. Provincia de Canchis, región Cusco.

**Criterios de inclusión:**

- Raíces en buen estado, frescas y limpias de *Paranephelius uniflorus* Poepp & Endl. (Chawi).
- Recolectadas en el distrito de Sicuani, Provincia Canchis, región Cusco.

**Criterios de exclusión:**

- Raíces deterioradas, no frescas y que tengan contaminación por hongos de *Paranephelius uniflorus* Poepp & Endl. (Chawi).
- Raíces recolectadas de otros lugares que no sean de Sicuani.

**El muestreo:** A realizar fue no probabilístico por conveniencia, considerando la facilidad de acceso y disponibilidad del lugar de recolección de la muestra.

### II.3. Variables de investigación

**Variable independiente:** Extracto hidroalcohólico de las raíces de *Paranephelius uniflorus poepp & Endl.* “Chawi”

**Definición Conceptual:** Solución hidroalcohólico obtenidos por maceración con solvente polar el cual contiene las propiedades medicinales de la planta en concentraciones al 5%, 10%, 20%, 40%, 80% y 100% de la raíz de *Paranephelius uniflorus poepp & Endl.* (Chawi).

**Definición operacional:** Extracto elaborado de la raíz de *Paranephelius uniflorus poepp & Endl.* (Chawi) obtenida por maceración con etanol 70 %.

**Variable dependiente:** Actividad antibacteriana sobre *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*.

**Definición conceptual:** Disminución o inhibición del crecimiento bacteriano por parte de la exposición a una sustancia (26) (27).

**Definición operacional:** Disminución o inhibición del crecimiento bacteriano por empleo del extracto hidroalcohólico de las raíces de *Paranephelius uniflorus poepp & Endl.* “Chawi”.

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

La técnica empleada para la recopilación de información se llevó a cabo a través del Método de Difusión en agar disco de Kirby Bauer, el cual es un método estandarizado que permite analizar la actividad antimicrobiana mediante la lectura de halos de inhibición (28).

El instrumento correspondiente a las características de este estudio fue de tipo metrilo digital, denominado vernier, el cual permitió analizar las diferentes medidas de los halos de inhibición.

- Ficha de recolección de datos para la actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Paranephelius uniflorus poepp & Endl.* “Chawi”.

Esta ficha fue elaborada siguiendo la información referencial citada por Baez Alcida, la cual está dividida en dos partes, ya que son 2 microorganismos empleados para la determinación del efecto antimicrobiano (29). Se considerará las concentraciones de extracto hidroalcohólico en las concentraciones de 100%, 80%, 40%, 20%, 10% y

5%; se realizó por quintuplicado, y se logró medir los halos de inhibición de crecimiento expresados en milímetros. Adicionalmente se comparó con disco de sensibilidad de ciprofloxacino 5 ug como control positivo y un control negativo que fue el solvente elegido en la prueba de solubilidad.

- Ficha de recolección de datos de la marcha fitoquímica del extracto etanólico de la raíz de *Paranephelius uniflorus poepp & Endl.* "chawi".

Esta ficha fue elaborada siguiendo la información referencial citada por Olga Lock, donde se recolectó los resultados cualitativos de los metabolitos secundarios presentes en el extracto, evidenciados mediante reactivos químicos. La medición es una reacción positiva si existe coloración o precipitado característico para cada ensayo; y es negativo si no presenta cambio en el ensayo realizado (29).

- Ficha de recopilación de datos de prueba de solubilidad

Esta ficha fue elaborada siguiendo la información referencial citada por Sánchez Edwin. El extracto hidroalcohólico obtenido fue sometido a diferentes solventes, estos datos fueron recogidos en esta ficha contiene los solventes empleados y lo que se espera obtener es si el extracto es soluble, mediante observación (29).

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

### **II.5.1 Elaboración del extracto**

El presente proyecto de investigación se desarrolló en las instalaciones del laboratorio de control de calidad de Industrias Médicas y Farmacéuticas S.R.L. ubicado en Cerro Colorado, Arequipa.

La técnica que se utilizó fue la maceración, con la que se elaboró el extracto hidroalcohólico de *Paranephelius uniflorus poepp & Endl.* (Chawi). Se recolectó aproximadamente 5 kilos de raíz de *Paranephelius uniflorus* (Chawi), las muestras estuvieron frescas, sin daños y sin contaminación por plagas; lavadas con agua destilada y puestas a secar a temperatura ambiente para su secado, así mismo, se recolectó dos ejemplares y otras partes de la planta para el estudio taxonómico.

Luego se tomaron 300 gramos de muestra seca y fueron pulverizados con un molino eléctrico de cuchillas se agregó a cada muestra vegetal 500 mL de solución hidroalcohólica al 70% p/v, donde se utilizó un alcoholímetro para medir

el grado alcohólico, se transfirió a una botella de vidrio color ámbar de 1 litro y se dejó macerar durante 10 días, en agitación constante con movimientos circulares durante unos 5 minutos cada 12 horas (30). Transcurrido el tiempo, se filtró en papel whatman, se recepcionó en un vaso beacker de 500 ml, luego se llevó a un el Rota vapor a 40°C, obteniendo el extracto hidroalcohólico al 100% (31).

### II.5.2 Prueba de solubilidad

Para la prueba de solubilidad se realizó según el método propuesto por Sánchez Edwin, en la cual una vez que se obtenga el extracto hidroalcohólico de *Paranephelius uniflorus poepp & Endl* (Chawi), se realizó la prueba de solubilidad; para ello emplearemos 5 solventes diferentes en 5 tubos de ensayo, se añadió 1 ml a cada solvente para cada tubo de ensayo, con 1 ml de muestra donde se observó visualmente si es soluble o no con los siguientes solventes (32):

- Tubo 1: cloroformo
- Tubo 2: Etanol
- Tuvo 3: Metanol
- Tubo 4: Agua destilada
- Tubo 5: N-Hexano

### II.5.3 Marcha fitoquímica

Para el desarrollo de la marcha fotoquímica se siguió el procedimiento de Olga Lock, el cual se realizó para determinar los metabolitos presentes en el extracto hidroalcohólico de *Paranephelius uniflorus poepp & Endl* (Chawi), de forma cualitativa, los cuales se evidenciaron de acuerdo a las reacciones químicas tanto por coloración o precipitación, las técnicas químicas que se utilizarán son las siguientes (33) :

- **Alcaloides:** Se empleó la reacción con Dragendorff, donde en un tubo de ensayo se agregó 0.5 mL gotas de la muestra (solución extracto hidroalcohólico de *Paranephelius uniflorus poepp & Endl* (Chawi) y seguidamente se adicionó 0.5 mL de ácido clorhídrico a una concentración al 10% y se agregó 3 gotas de Dragendorff. Si la precipitación es de color naranja ladrillo entonces la reacción es positiva.



- **Compuesto fenólico:** Se empleó la Reacción de Tricloruro Férrico, consiste en la mezcla de 0.5 mL de la muestra (solución extracto hidroalcohólico de *Paranephelius uniflorus poepp & Endl* (Chawi.) y se agregó 3 gotas de tricloruro férrico todo ello en un tubo de ensayo. Si la coloración resultante es verde azul evidencia la existencia de taninos.
- **Compuesto fenólico:** Se empleó la Reacción de Gelatina, se agregó 0.5 mL del extracto hidroalcohólico de *Paranephelius uniflorus poepp & Endl* (chawi.) y se agregó 3 gotas de Gelatina, todo ello en tuyo de ensayo. Si se llega a observar una coloración blanca con un precipitado denso evidencia la existencia de taninos.
- **Compuestos fenólico:** Se empleó la Reacción con Shinoda, se agregó 1 mL del extracto hidroalcohólico de *Paranephelius uniflorus poepp & Endl* (chawi.), se agregó limaduras de magnesio y 3 gotas de ácido clorhídrico concentrado todo ello en tubo de ensayo. Si se observa una coloración rosa o rojo se confirma la existencia de flavonoides cuando el magnesio es oxidado por el ácido clorhídrico concentrado se forma H<sub>2</sub> (eliminado en forma de gas); el MgCl<sub>2</sub>, crea complejos con los flavonoides dando coloraciones características.
- **Aminoácidos:** Se empleó la Reacción de Ninhidrina, se agregó 0.5 mL de extracto hidroalcohólico de *Paranephelius uniflorus poepp & Endl* (chawi.) y se agregó 3 gotas de reactivo de Ninhidrina todo ello en un tubo de ensayo y se llevó a baño maría a 45°C por 10 minutos, luego se retiró y se dejó enfriar y la formación de un color azul-violeta indica la presencia de aminoácidos.

#### II.5.4 Actividad antibacteriana

La evaluación de la actividad antimicrobiana fue mediante el método de difusión en agar con discos según Kirby Bauer, este método permitió la determinación de la actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico de *Paranephelius uniflorus poepp & Endl* (chawi) frente a cepas ATCC de *Escherichia coli* 25922 y *Stafilococcus aureus* 25923. El ensayo para cada dilución se realizó por quintuplicado para cada concentración (13).

Las muestras de fotos e imágenes del laboratorio donde se desarrolló la parte experimental, fueron expuestas en los anexos, así como el certificado otorgado por el Gerente General de empresa y su responsable de Laboratorio.

La activación de las cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Escherichia coli* ATCC 25922 fueron reactivadas en medio de cultivo Agar Mueller Hinton a 35 °C de 2 a 8 horas, manteniendo las medidas de bioseguridad especificadas por el proveedor en la documentación manual de bioseguridad técnica y de laboratorio elaborado por la Organización Mundial de la Salud (OMS) (28) (29). Luego se sembró en placas de Agar Mac Conkey y Agar Manitol Salado, los cuales son medios selectivos para *Escherichia coli* y *Estafilococo aureus* respectivamente (13).

Las preparaciones de los caldos de cultivo y los medios de cultivo (agares), se elaboraron de acuerdo con las instrucciones del fabricante y se esterilizó en autoclave a 121°C por 15 minutos, luego de ello se colocara el medio cultivo (agar) se colocó en placas petri estériles hasta su empleo de acuerdo a la metodología.

Preparación de Caldo Peptonado: se suspendió 15 gramos del polvo dentro de 1 litro de agua purificada. Se mezcló calentando hasta hierva durante 1 minuto y luego se distribuirá en recipientes adecuados. Finalmente se llevará a esterilizar en autoclave a una temperatura de 121°C durante 15 minutos (35).

Preparación de Agar Mac Conkey: se suspendió 50 gramos del polvo dentro 1 litro de agua purificada. Para que durante 5 minutos repose, posteriormente calentar y realizando una ligera pero frecuente agitación y finalmente, llevarlo a ebullición durante 1 a 2 minutos hasta que la mezcla se disuelva por completo. Se distribuirá en recipientes apropiados y esterilizará en autoclave a una temperatura de 121°C durante 15 minutos (35).

Preparación de Agar Mueller Hinton: se suspendió 37 gramos del polvo dentro 1 litro de agua purificada y dejando en reposo por 10 a 15 minutos. Se calentó con ligera agitación frecuentemente y llegar a hervir durante 1 minuto para disolverse completamente. Se esterilizó a una temperatura de 121°C durante 15 minutos. Se enfriará a una temperatura de 45° o 50°C para luego distribuir las en volumen adecuado en las placas de Petri estériles y así llegar a un espesor de 4 mm en superficie horizontal (25-30 ml en placas de 9 cm de diámetro) (35).

Preparación de Agar Manitol Salado: Suspender 111 gramos del polvo dentro 1 litro de agua purificada. Dejando en reposo durante 5 minutos y calentar con ligera agitación frecuentemente y llevando a ebullición durante 1 o 2 minutos para que se disuelva por completo. Y distribuirlos en recipientes apropiados y esterilizar en autoclave a una temperatura de 118 o 121°C durante 15 minutos. Se dejará a que se enfríe para luego distribuirlos en placas de Petri estériles (35). Los inóculos preparados con cepas de *Escherichia coli* y *Estafilococo aureus* se sembraron por separado en placas de Agar Mueller Hinton, para ello sembrar el inóculo uniformemente sobre la superficie del medio con el hisopo estéril o asa. Al momento de hacer esta siembra se realizó en tres direcciones distintas. Evitar inóculo muy concentrado o muy diluido. Permitir que la superficie del medio sembrado se seque durante 5 a 20 minutos, manteniendo la placa petri con la tapa cerrada. Se usó un dispensador o pinzas estériles para colocar el disco en la superficie del agar, con estas presionar suavemente el disco contra el agar para asegurar un contacto uniforme (28).

Se sembró 24 placas petri con agar Mueller Hinton para cada cepa empleada, fueron colocadas en una incubadora a 37° C x 24 horas, luego de los cuales se retiró del equipo incubador, y se procedió a medir los halos de crecimiento inhibido empleando una regla vernier, el cual expresa la medida en milímetros y posteriormente se registró los datos en la ficha de recolección de datos para el estudio microbiológico.

El tamaño de halo de inhibición se relacionó directamente con el efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de *Paranephelius uniflorus* (Chawi). Para la preparación de discos de sensibilidad se utilizó un perforador convencional para obtener los discos de papel Whatman, con un diámetro de 6 mm y serán esterilizados a 121 °C por un lapso de 30 minutos. Fueron embebidos con cada concentración a ensayar del extracto hidroalcohólico de Chawi. Luego se procedió a colocarlos sobre la superficie del medio inoculado previamente con la cepa correspondiente (31).

- Grupo I: Discos embebidos con el solvente elegido.
- Grupo II: Discos embebidos con extracto hidroalcohólico de la raíz de chawi. Al 100%

- Grupo III: Discos embebidos con extracto hidroalcoholico de la raíz de chawi. Al 80%
- Grupo IV: Discos embebidos con extracto hidroalcoholico de la raíz de chawi. Al 40%
- Grupo V: Discos embebidos con extracto hidroalcoholico de la raíz de chawi. Al 20%
- Grupo VI: Discos embebidos con extracto hidroalcoholico de la raíz de chawi. Al 10%
- Grupo VII: Discos embebidos con extracto hidroalcoholico de la raíz de chawi. Al 5%
- Grupo VIII: Discos embebidos con ciprofloxacino 5 µg.

Seguidamente se invierte las placas inoculadas y fueron colocadas en la incubadora a 37 °C de temperatura por 24 horas. Cada ensayo se realizó por quintuplicado (36).

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

Los datos obtenidos de la parte experimental fueron evaluados utilizando la versión disponible del Statistical Package for Social Sciences (SPSS), programa estadístico que permitirá el análisis de la media y promedio de cada uno de los datos obtenidos.

#### **II.7. Aspectos Éticos**

En la presente investigación se tomó en cuenta los aspectos bioéticos de anatomía, no maleficencia, beneficencia y justicia. Asimismo, los autores de este proyecto son los únicos responsables de la información brindada, asimismo se sometió por el programa de antiplagio-turnitin para ver la originalidad del trabajo presentando, asimismo cumpliendo con todas las normas para el uso de antecedentes y referencias para no usurpar el trabajo realizados por otros investigadores y cumpliendo con las normas establecidas por la universidad María Auxiliadora.

### III. RESULTADOS

**TABLA 1. Solubilidad del extracto hidroalcohólico de *Paranephelius uniflorus* Poepp & Endl.**

SOLVENTE	SOLUBILIDAD
Etanol	++
Metanol	+++
Cloroformo	-
Agua destilada	+++
N- hexano	-

**LEYENDA:**

Alta solubilidad	+++
Mediana solubilidad	++
Baja solubilidad	++
Totalmente insoluble	-

**TABLA 2. Determinación de metabolitos secundarios en extracto hidroalcohólico de *Paranephelius uniflorus* Poepp & Endl.**

Metabolitos Secundarios	Ensayo	Resultado
Alcaloides	Reacción de Drangenforff	++
Compuestos Fenólicos Y Flavonoides	Reacción de Tricloruro férrico	+
	Reacción de Gelatina	-
	Reacción con Shinoda	-
Aminoácidos	Reacción Ninhidrina	-

**LEYENDA**

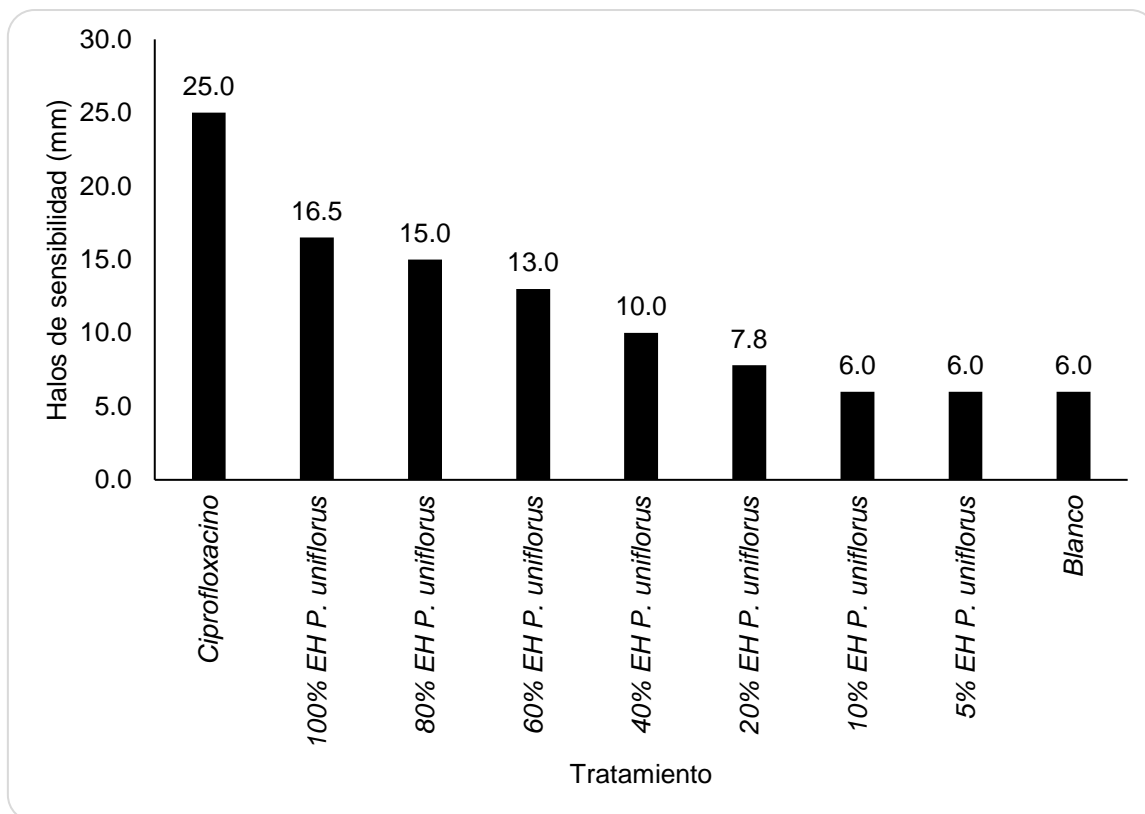
Ausente	-
Escaso	+
Leve	++
Moderado	++

**Tabla 3. Efecto del extracto hidroalcohólico de *Paranephelius uniflorus* Poepp & Endl. Frente a *E. coli* 25922.**

Tratamiento	n	Mediana (mm)
Ciprofloxacino	5	25,0
100% EH <i>P. uniflorus</i>	5	16,5
80% EH <i>P. uniflorus</i>	5	15,0
60% EH <i>P. uniflorus</i>	5	13,0
40% EH <i>P. uniflorus</i>	5	10,0
20% EH <i>P. uniflorus</i>	5	7,8
10% EH <i>P. uniflorus</i>	5	6,0
5% EH <i>P. uniflorus</i>	5	6,0
Blanco	5	6,0

$K=43,723 \quad p=6,419 \times 10^{-7}$

Como se observa en la Tabla 3 y Figura 1 con una confiabilidad del 95% podemos concluir que existen diferencias estadísticas entre cada uno de los tratamientos evaluados ( $K=43,723$ ;  $p=6,419 \times 10^{-7}$ ) correspondiendo al 100% de extracto hidroalcohólico de *P. uniflorus* el tratamiento de interés con mayor halo de sensibilidad cercano a Ciprofloxacino.



**Figura 1. Comparación del efecto de extracto hidroalcohólico de *Paranephelius uniflorus* Poepp & Endl. Frente a *E. coli* 25922.**

**Tabla 4. Prueba de Comparaciones múltiples de Bonferroni para el extracto hidroalcohólico de *Paranephelius uniflorus* Poepp & Endl. Frente a *E. coli* 25922.**

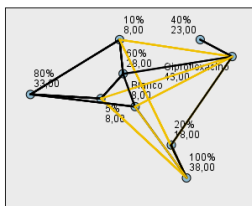
Tratamiento	Mediana	Significancia
Ciprofloxacino	25,0	a
100% EH <i>P. uniflorus</i>	16,5	a b
80% EH <i>P. uniflorus</i>	15,0	a b c
60% EH <i>P. uniflorus</i>	13,0	a b c d
40% EH <i>P. uniflorus</i>	10,0	a b c d e
20% EH <i>P. uniflorus</i>	7,8	a b c d e f
10% EH <i>P. uniflorus</i>	6,0	c d e f g
5% EH <i>P. uniflorus</i>	6,0	c d e f g h
Blanco	6,0	c d e f g h i

Significancia=Las letras de significancia estadística ( $p < 0,05$ ) están ordenadas alfabéticamente en orden de importancia

En la Tabla 4 y Figura 2 se puede observar a través del análisis de comparaciones múltiples de Bonferroni que el tratamiento de 100, 80, 60, 40 y 20% de extracto hidroalcohólico de *P. uniflorus* tienen un efecto significativo similar sobre el crecimiento de *E. coli* 25922 parecido a Ciprofloxacino.



Comparaciones entre parejas de Tratamiento



Cada nodo muestra el rango promedio de muestras de Tratamiento.

Muestra 1-Muestra 2	Estadístico de contraste	Error Error	Desv. Estadístico de contraste	Sig.	Sig. ajust.
5%-Ciprofloxacino	-35,000	8,144	-4,298	,000	,001
10%-Ciprofloxacino	-35,000	8,144	-4,298	,000	,001
Blanco-Ciprofloxacino	35,000	8,144	4,298	,000	,001
5%-100%	-30,000	8,144	-3,684	,000	,008
10%-100%	-30,000	8,144	-3,684	,000	,008
Blanco-100%	30,000	8,144	3,684	,000	,008
5%-80%	-25,000	8,144	-3,070	,002	,077
10%-80%	-25,000	8,144	-3,070	,002	,077
20%-Ciprofloxacino	-25,000	8,144	-3,070	,002	,077
Blanco-80%	25,000	8,144	3,070	,002	,077
5%-60%	-20,000	8,144	-2,456	,014	,506
10%-60%	-20,000	8,144	-2,456	,014	,506
20%-100%	-20,000	8,144	-2,456	,014	,506
40%-Ciprofloxacino	-20,000	8,144	-2,456	,014	,506
Blanco-60%	20,000	8,144	2,456	,014	,506
5%-10%	,000	8,144	,000	1,000	1,000
5%-20%	-10,000	8,144	-1,228	,219	1,000
5%-40%	-15,000	8,144	-1,842	,066	1,000
10%-20%	-10,000	8,144	-1,228	,219	1,000
10%-40%	-15,000	8,144	-1,842	,066	1,000
20%-40%	-5,000	8,144	-,614	,539	1,000
20%-60%	-10,000	8,144	-1,228	,219	1,000
20%-80%	-15,000	8,144	-1,842	,066	1,000
40%-60%	-5,000	8,144	-,614	,539	1,000
5%-Blanco	,000	8,144	,000	1,000	1,000
40%-80%	-10,000	8,144	-1,228	,219	1,000
10%-Blanco	,000	8,144	,000	1,000	1,000
40%-100%	-15,000	8,144	-1,842	,066	1,000
60%-80%	-5,000	8,144	-,614	,539	1,000
Blanco-20%	10,000	8,144	1,228	,219	1,000
60%-100%	-10,000	8,144	-1,228	,219	1,000
Blanco-40%	15,000	8,144	1,842	,066	1,000
60%-Ciprofloxacino	-15,000	8,144	-1,842	,066	1,000
80%-100%	-5,000	8,144	-,614	,539	1,000
80%-Ciprofloxacino	-10,000	8,144	-1,228	,219	1,000
100%-Ciprofloxacino	-5,000	8,144	-,614	,539	1,000

Cada fila prueba la hipótesis nula de que las distribuciones de la Muestra 1 y la Muestra 2 son las mismas. Se muestran las significaciones asintóticas (pruebas bilaterales). El nivel de significación es ,05. Los valores de significación se han ajustado mediante la corrección de Bonferroni para varias pruebas.

Figura 2. Comparaciones múltiples por parejas del efecto de extracto hidroalcohólico de *Paranephelius uniflorus* Poepp & Endl. Frente a *E. coli* 25922.

**Tabla 5. Determinación de la concentración mínima inhibitoria del extracto hidroalcohólico de *Paranephelium uniflorus* Poepp & Endl. Frente a *E. coli* 25922.**

Tratamiento (% EH <i>P. uniflorus</i> )	CMI (Cruces)
0,0	+++
0,16	+++
0,31	+++
0,63	+++
1,25	++
2,5	++
5,0	+
10,0	-
20,0	-
40,0	-
80,0	-

---

$\rho=-0,951$        $\rho=6,911 \times 10^{-6}$

Como se observa en la Tabla 5, existe una excelente relación inversa entre la concentración de extracto hidroalcohólico de *P. uniflorus* y la de microorganismos ( $\rho=-0,951$ ;  $\rho=6,911 \times 10^{-6}$ ) siendo 5 % de extracto hidroalcohólico de *P. uniflorus* la mínima concentración que permite crecimiento de *E. coli*.

**Tabla 6. Determinación de la concentración mínima bactericida del extracto hidroalcohólico de *Paranephelium uniflorus* Poepp & Endl. Frente a *E. coli* 25922.**

Tratamiento (% EH <i>P.</i> <i>uniflorus</i> )	CMB (UFC/ml)
0,0	12
0,16	11
0,31	11
0,63	10
1,25	8
2,5	8
5,0	2
10,0	0
20,0	0
40,0	0
80,0	0

$\rho = -0,972$        $p = 5,472 \times 10^{-7}$

Como se observa en la Tabla 6, existe una excelente relación inversa entre la concentración de extracto *hidroalcohólico* de *P. uniflorus* y la de microorganismos ( $\rho = -0,972$ ;  $p = 5,472 \times 10^{-7}$ ) siendo 10 % la mínima concentración de extracto hidroalcohólico de *P. uniflorus* que no permite el crecimiento de *E. coli* 25922.

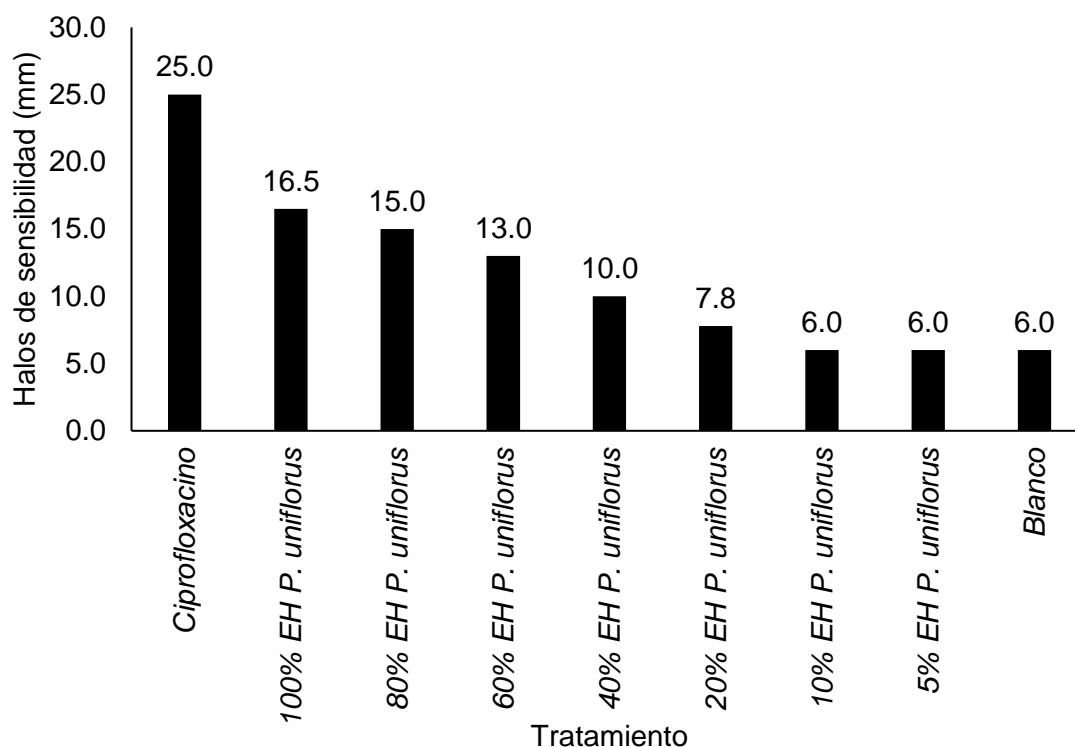
**Tabla 7. Efecto del extracto hidroalcohólico de *Paranephelius uniflorus* Poepp & Endl. Frente a *S. aureus* 25923.**

Tratamiento	n	Mediana (mm)
Ciprofloxacino	5	25,0
100% EH <i>P. uniflorus</i>	5	16,5
80% EH <i>P. uniflorus</i>	5	15,0
60% EH <i>P. uniflorus</i>	5	13,0
40% EH <i>P. uniflorus</i>	5	10,0
20% EH <i>P. uniflorus</i>	5	7,8
10% EH <i>P. uniflorus</i>	5	6,0
5% EH <i>P. uniflorus</i>	5	6,0
Blanco	5	6,0

---

$K=43,714 \quad p= 6,443 \times 10^{-7}$

Como se observa en la Tabla 7 y Figura 3 con una confiabilidad del 95% podemos concluir que existen diferencias estadísticas entre cada uno de los tratamientos evaluados ( $K=43,714$ ;  $p=6,443 \times 10^{-7}$ ) correspondiendo a 100 % de extracto hidroalcohólico de *P. uniflorus* el tratamiento con mayor halo de sensibilidad cercano a Ciprofloxacino.



**Figura 3. Comparación del efecto del extracto hidroalcohólico de *Paranephelius uniflorus* Poepp & Endl. Frente a *S. aureus* 25923.**

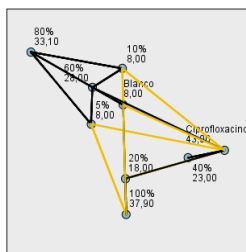
**Tabla 8. Prueba de Comparaciones múltiples de Bonferroni para el extracto hidroalcohólico de *Paranephelius uniflorus* Poepp & Endl. Frente a *S. aureus* 25923.**

Tratamiento	Mediana	Significancia
Ciprofloxacino	25,0	a
100% EH <i>P. uniflorus</i>	16,5	a b
80% EH <i>P. uniflorus</i>	15,0	a b c
60% EH <i>P. uniflorus</i>	13,0	a b c d
40% EH <i>P. uniflorus</i>	10,0	a b c d e
20% EH <i>P. uniflorus</i>	7,8	a b c d e f
10% EH <i>P. uniflorus</i>	6,0	c d e f g
5% EH <i>P. uniflorus</i>	6,0	c d e f g h
Blanco	6,0	c d e f g h
		i

Significancia=Las letras de significancia estadística ( $p < 0,05$ ) están ordenadas alfabéticamente en orden de importancia

En la Tabla 8 y Figura 4 se puede observar a través del análisis de comparaciones múltiples de Bonferroni que el tratamiento de 100, 80, 60, 40 y 20% de extracto hidroalcohólico de *P. uniflorus* tienen un efecto significativo similar sobre el crecimiento de *S. aureus* 25923 parecido a Ciprofloxacino.

Comparaciones entre parejas de Tratamiento



Cada nodo muestra el rango promedio de muestras de Tratamiento.

Muestra 1-Muestra 2	Estadístico de contraste	Error Error	Desv. Estadístico de contraste	Sig.	Sig. ajust.
5%-Ciprofloxacino	-35,000	8,142	-4,299	,000	,001
10%-Ciprofloxacino	-35,000	8,142	-4,299	,000	,001
Blanco-Ciprofloxacino	35,000	8,142	4,299	,000	,001
5%-100%	-29,900	8,142	-3,672	,000	,009
10%-100%	-29,900	8,142	-3,672	,000	,009
Blanco-100%	29,900	8,142	3,672	,000	,009
5%-80%	-25,100	8,142	-3,083	,002	,074
10%-80%	-25,100	8,142	-3,083	,002	,074
Blanco-80%	25,100	8,142	3,083	,002	,074
20%-Ciprofloxacino	-25,000	8,142	-3,070	,002	,077
5%-60%	-20,000	8,142	-2,456	,014	,505
10%-60%	-20,000	8,142	-2,456	,014	,505
40%-Ciprofloxacino	-20,000	8,142	-2,456	,014	,505
Blanco-60%	20,000	8,142	2,456	,014	,505
20%-100%	-19,900	8,142	-2,444	,015	,523
5%-10%	,000	8,142	,000	1,000	1,000
5%-20%	-10,000	8,142	-1,228	,219	1,000
5%-40%	-15,000	8,142	-1,842	,065	1,000
10%-20%	-10,000	8,142	-1,228	,219	1,000
10%-40%	-15,000	8,142	-1,842	,065	1,000
20%-40%	-5,000	8,142	-,614	,539	1,000
20%-60%	-10,000	8,142	-1,228	,219	1,000
20%-80%	-15,100	8,142	-1,855	,064	1,000
40%-60%	-5,000	8,142	-,614	,539	1,000
5%-Blanco	,000	8,142	,000	1,000	1,000
40%-80%	-10,100	8,142	-1,240	,215	1,000
10%-Blanco	,000	8,142	,000	1,000	1,000
40%-100%	-14,900	8,142	-1,830	,067	1,000
60%-80%	-5,100	8,142	-,626	,531	1,000
Blanco-20%	10,000	8,142	1,228	,219	1,000
60%-100%	-9,900	8,142	-1,216	,224	1,000
Blanco-40%	15,000	8,142	1,842	,065	1,000
60%-Ciprofloxacino	-15,000	8,142	-1,842	,065	1,000
80%-100%	-4,800	8,142	-,590	,556	1,000
80%-Ciprofloxacino	-9,900	8,142	-1,216	,224	1,000
100%-Ciprofloxacino	-5,100	8,142	-,626	,531	1,000

Cada fila prueba la hipótesis nula de que las distribuciones de la Muestra 1 y la Muestra 2 son las mismas. Se muestran las significaciones asintóticas (pruebas bilaterales). El nivel de significación es ,05. Los valores de significación se han ajustado mediante la corrección de Bonferroni para varias pruebas.

Figura 4. Comparaciones múltiples por parejas del extracto hidroalcohólico de *Paranephelius uniflorus* Poepp & Endl. Frente a *S. aureus* 25923.

**Tabla 9. Determinación de la concentración mínima inhibitoria del extracto hidroalcohólico de *Paranephelius uniflorus* Poepp & Endl. Frente a *S. aureus* 25923.**

Tratamiento (% EH <i>P. uniflorus</i> )	CMI (Cruces)
0,0	+++
0,16	+++
0,31	+++
0,63	+++
1,25	+++
2,5	++
5,0	+
10,0	-
20,0	-
40,0	-
80,0	-

---

$\rho=-0,929$        $p=3,505 \times 10^{-5}$

Como se observa en la Tabla 9, existe una excelente relación inversa entre la concentración de extracto hidroalcohólico de *P. uniflorus* y la de microorganismos ( $\rho=-0,929$ ;  $p=3,505 \times 10^{-5}$ ) siendo 5% de extracto hidroalcohólico de *P. uniflorus* la mínima concentración que permite crecimiento de *S. aureus* 25923.



**Tabla 10. Determinación de la concentración mínima bactericida del extracto hidroalcohólico de *Paranephelium uniflorus* Poepp & Endl. Frente a *S. aureus* 25923.**

Tratamiento (% EH <i>P. uniflorus</i> )	CMB (UFC/ml)
0,0	12
0,16	12
0,31	12
0,63	10
1,25	9
2,5	9
5,0	2
10,0	0
20,0	0
40,0	0
80,0	0

---

$\rho=-0,965$        $p=1,502 \times 10^{-6}$

Como se observa en la Tabla 10, existe una excelente relación inversa entre concentración de extracto hidroalcohólico de *P. uniflorus* y la de microorganismos ( $\rho=-0,965$ ;  $p=1,502 \times 10^{-6}$ ) siendo 10% de extracto hidroalcohólico de *P. uniflorus* la mínima concentración que no permite el crecimiento de *S. aureus* 25923.

## IV. DISCUSIÓN

### IV.1. Discusión de resultados

En la presente investigación se evaluó el efecto antimicrobiana que posee el extracto hidroalcohólico de la raíz de *Paranephelium uniflorus poepp & Endl* (Chawi). Frente a cultivos de en placa Petri de *Escherichia coli*. ATCC 25922 y *Staphylococcus aureus*. ATCC 25923 empleando el método de difusión en disco para poder determinar mediante la medición de halos de inhibición el efecto inhibitorio encontrado por parte de esta planta, comparando con los grupos control, los resultados encontrados en esta investigación.

Así mismo, en la investigación se tuvo como primer objetivo específico Determinar el efecto antibacteriano in vitro que presenta el extracto hidroalcohólico de la raíz de *Paranephelium uniflorus poepp & Endl* (Chawi) frente a *Escherichia coli* ATCC 25922 donde se pudo encontrar que existen diferencias estadísticas entre cada uno de los tratamientos evaluados ( $K=43,723$ ;  $p=6,419 \times 10^{-7}$ ) correspondiendo al 100% de extracto hidroalcohólico de *P. uniflorus poepp & Endl* (Chawi) el tratamiento de interés con mayor halo de sensibilidad cercano a Ciprofloxacino, la confiabilidad fue de un 95%.

Frente a este objetivo la investigación de **Alonso (2019)**, evaluó el efecto antibacteriano in vitro del extracto acuoso de hojas de *Bidens pilosa* (cadillo) frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25922 por el método de método de Kirby-Bauer. Los resultados evidenciaron que para el grupo control, el tamaño de halo alcanzado fue de 6.0 mm, para el grupo estándar, el tamaño del halo alcanzó  $26.8 \pm 1.46$  mm, para el grupo experimental 1 el tamaño del halo alcanzo  $15.4 \pm 0.60$  mm y para el grupo experimental 2 el tamaño de halo alcanzó  $20.1 \pm 1.10$  mm.(20).

Tenemos también que la Organización Mundial de la Salud (OMS) actualmente, estima que gran parte de población el 80 %, utiliza el conocimiento tradicional como medio de tratamiento y curación a sus dolencias, ya que están conscientes de las propiedades naturales que poseen estas plantas medicinales y su efectividad en el tratamiento de enfermedades infecciosas.

Como segundo objetivo específico tuvimos Determinar el efecto antibacteriano in vitro que presenta el extracto hidroalcohólico de la raíz de *Paranephelius uniflorus poepp & Endl.* (Chawi) frente a *Stafilococcus aureus* ATTC 25922 donde se pudo encontrar que existen diferencias estadísticas entre cada uno de los tratamientos evaluados ( $K=43,714$ ;  $p=6,443 \times 10^{-7}$ ) correspondiendo a 100 % de extracto hidroalcohólico de *P. uniflorus poepp & Endl* el tratamiento con mayor halo de sensibilidad cercano a Ciprofloxacino con una confiabilidad de 95%.

Frente a este objetivo tenemos a **Sabry S, et al (2021)**, Evaluó el efecto *in vitro* del extracto de partes vegetales de *Senecio glaucus* frente a bacterias *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*, Se preparó los extractos metanólicos para cada parte de la planta vegetal como tallo, raíz y hoja, recolectados en diferentes zonas. Los resultados mostraron que el extracto metanólico de la raíz, tallo y hoja presentan actividad antibacteriana frente a *Escherichia coli* con halos de inhibición de 25,15 y 15 mm, sin embargo frente a *Pseudomonas aeruginosa* demostró resultados negativos de inhibición (18).

El tercer objetivo específico tenemos Conocer el efecto antibacteriano in vitro que presenta el extracto hidroalcohólico de la raíz de *Paranephelius uniflorus poepp & Endl.* (Chawi) en *Escherichia coli* ATTC 25922 y *Stafilococcus aureus* ATTC 25922 en comparación con la ciprofloxacina donde obtuvimos existe una excelente relación inversa entre la concentración de extracto hidroalcohólico de *P. uniflorus poepp & Endl.* y la de microorganismos ( $r=-0,951$ ;  $p=6,911 \times 10^{-6}$ ) siendo 5 % de extracto hidroalcohólico de *P. uniflorus poepp & Endl.* La mínima concentración que permite crecimiento de *E. coli* 25922.

Frente a este objetivo tenemos a **Huillca L. et al (2020)**, Evaluó el efecto antimicrobiano *in vitro* de los liposomas que fueron preparados con el extracto hidroalcohólico al 70 % de *Senecio rhizomatus Rusby* "tikllaywarmi", se determinó la concentración mínima inhibitoria del extracto frente a *Pseudomonas aeruginosa* con un valor de 0,125 mg y el halo máximo de 17,306 mm a una concentración de 160 mg, luego se procedió a la elaboración de los liposomas utilizando componentes como fosfatidilcolina, donde fueron sometidos a diferentes pruebas y controles microbiológicos donde se demostró la ausencia

de microorganismos que puedan alterar su composición, seguidamente se evaluó la actividad antibacteriana *in vitro* de los liposomas mediante el método de microdilución en caldo y la turbidez (lectura al espectrómetro UV. Visible), donde se emplearon concentraciones de 12, 25, 50, 100 y 200 mg del extracto respectivamente. Se determina que en las 5 concentraciones del extracto hidroalcohólico impidieron el desarrollo microbiano de la cepa en estudio, pero a 200 mg (7 %) y a 100 mg (11 %) obtuvieron un mejor efecto antibacteriano (22). Frente a lo mencionado se acepta lo que indica la hipótesis que el El extracto hidroalcohólico de la raíz de *Paranephelium uniflorus poepp & Endl.* (Chawi) presenta efecto antibacteriano *in vitro* frente a cepas ATCC de *Escherichia coli* 25922 y *Stafilococcus aureus* 25923. Estos resultados son corroborados por Edwin S, et al (2022), Evaluó la actividad antibacteriana *in vitro* del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Senecio canescens* Humb. & Bonpl. Cuatrec. (wila wila) frente a cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Escherichia coli* ATCC 25922. Se determinó la actividad antibacteriana *in vitro* mediante la técnica de kirby Bauer a concentraciones de 100, 80, 60 y 40 % del extracto hidroalcohólico frente a cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Escherichia coli* ATCC 25922 utilizando como control positivo al antibiótico ciprofloxacino de 5 µg. Los resultados demostraron que el extracto hidroalcohólico en concentración de 100, 80, 60 y 40 % presentaron halo de inhibición promedio de 12,16, 9,23, 8,3 y 7,36 mm respectivamente frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 las cuales fueron comparadas con ciprofloxacino de 5 µg logrando un promedio de halo de inhibición de 38 mm; sin embargo, a la concentración del 100 % se determinó halo de inhibición promedio de 7,2 mm frente a *Escherichia coli* ATCC 25922 comparado con el control positivo que alcanzó un promedio de halo de inhibición de 50 mm.

En tal sentido, bajo lo referido anteriormente y analizando los resultados confirmamos Los datos de sensibilidad bacteriana (mm) correspondientes a 7 concentraciones de extracto hidroalcohólico de *P. uniflorus poepp & Endl.* con un control positivo de Ciprofloxacino y un control negativo (Blanco) frente a *E. coli* 25922 y *S. aureus* 25923 fueron sometidos a un análisis exploratorio de datos hallándose que no existe completamente normalidad ( $p < 0,05$ ) a través de la prueba de Shapiro-Wilk, ni homogeneidad de varianzas ( $p < 0,05$ ) (Prueba de

Levene), por lo cual se procedió al análisis no paramétrico de los halos de sensibilidad a través de la prueba de Kruskal-Wallis (K) y prueba de comparaciones múltiples de Bonferroni para la determinación del mejor tratamiento ( $p < 0,05$ ), asimismo, para la evaluación de la concentración mínima inhibitoria y concentración mínima bactericida se determinó la relación entre concentración de extracto hidroalcohólico y concentración de microorganismos a través de la prueba de correlación de Spearman ( $\rho$ ) donde se obtuvo una confiabilidad de 95%.

#### **IV.2. Conclusiones**

- Primero: El extracto hidroalcohólico de la raíz de *Paranephelium uniflorus poepp & Endl.* (Chawi), presenta efecto antibacteriano frente a *Escherichia coli* 25922 y frente a *Staphylococcus aureus* 25923.
- Segundo: El extracto hidroalcohólico de la raíz de *Paranephelium uniflorus poepp & Endl.* (Chawi) al 20%, 40%, 60%, 80% y 100% presentaron una media de sus halos de inhibición de 7,80 mm; 10,0 mm; 13,0 mm, 15,0 mm y 16,50 mm y efecto antibacteriano in vitro frente a *Escherichia coli* ATCC 25922 y en igual concentración presentaron una media de sus halos de inhibición de 7,80 mm; 10,0 mm; 13,0 mm, 15,0 mm y 16,50 mm y efecto antibacteriano in vitro frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.
- Tercero: El extracto hidroalcohólico de la raíz de *Paranephelium uniflorus poepp & Endl.* (Chawi) al 20%, 40%, 80% y 100% no superan el efecto inhibitor del ciprofloxacino 5 ug, presentando una medida de halo de inhibición de 25 mm frente a *Escherichia coli* ATCC 25922 y frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.
- Cuarto: Los metabolitos secundarios presentes de la raíz de *Paranephelium uniflorus poepp & Endl.* (Chawi), fueron alcaloides y taninos, y la solubilidad del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Paranephelium uniflorus poepp & Endl.* (Chawi) evaluado en diferentes solventes fueron alta solubilidad al metanol y agua destilada y mediana solubilidad al etanol.

### **IV.3. Recomendaciones**

- Se recomienda seguir investigando sobre las propiedades antibacterianas de la especie vegetal *Paranephelium uniflorum* poepp & Endl. (Chawi), frente a otras cepas bacterianas de interés médico.
- Se recomienda Iniciar investigaciones microbiológicas con diferentes solventes y métodos de extracción, de las hojas, raíz y tallos de la especie vegetal, frente a hongos y bacterias que ocasionan diferentes infecciones por bacteria.
- Se recomienda implementar formulaciones a base *Paranephelium uniflorum* poepp & Endl. (Chawi). Para el uso en tratamientos de enfermedades a nivel sector salud y contrastar su capacidad antibacteriana.

## REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

1. Barrios Lopez M, Rojo Cornejo P, Gómez Gonzáles C , Cháves Sánchez F. Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Science Direct. 2013 Mayo; 31(5).
2. Hernández Moreno LV, Pabón Baquero LC, Hernández Rodríguez P. Estudio Fitoquímico y actividad antimicrobiana de plantas medicinales empleadas para el control de Infecciones Urinarias. Revista Facultad de Ciencias Básicas. 2020 Enero - Junio; 16(1).
3. OPS Organización Panamericana de la Salud. Organización Panamericana de la Salud. [Online].; 2019 [cited 2022 Mayo 12. Available from: [https://www3.paho.org/hq/index.php?option=com\\_content&view=article&id=10537:sumario-guia-veta-investigacion-brotes&Itemid=41417&lang=es](https://www3.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=10537:sumario-guia-veta-investigacion-brotes&Itemid=41417&lang=es).
4. Organización Mundial de La Salud O. Organización Mundial de la Salud. [Online].; 2020 [cited 2022 Mayo 12. Available from: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/food-safety>.
5. Gómez Duarte O. Enfermedad diarreica aguda por Escherichia coli enteropatógenas en Colombia. Revista chilena de infectología. 2014 Octubre; 31(5).
6. Ochoa T, Mercado E, Durand D, Rivera F, Mosquito S, Contreras C, et al. Frecuencia y patotipos de Escherichia coli diarrogénicas en niños peruanos con y sin diarrea. Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica. 2011 Marzo; 28(1).
7. Gallegos Zurita M. Las plantas medicinales: principal alternativa para el cuidado de la salud, en la población rural de Babahoyo, Ecuador. Scielo Perú. Anales de la Facultad de Medicina. 2017; 77(4).
8. Maldonado C, Paniagua-Zambrana N, Bussman R, Zenteno-Ruiz F, Fuentes A. La importancia de las plantas medicinales, su taxonomía y la búsqueda de la cura a la enfermedad que causa el coronavirus (COVID-19). Scielo. 2020 Abril ; 55(1).

9. Bahmani M, Saki K, Shahsavari S, Rafieian-Kopaei M, Sepahvand R, Adineh A. Identification of medicinal plants effective in infectious diseases in Urmia, northwest of Iran. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 2015 Octubre; 5(10).
10. Robles Aguilar G. Pandemia Silenciosa: las infecciones por bacterias resistentes a antibióticos matan más personas que la malaria y el sida. *Revista médica The Lancet*. 2022 enero; 1.
11. Mayorga Riuz LJ. "Elaboración de un gel antiinflamatorio y antibacteriano a base de Muña (*Mintostachys mollis*) realizado en el Laboratorio del Centro Médico Universitario Pedro P. Díaz de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa.". Tesis para optar grado de Doctora. Arequipa - Perú: Universidad Nacional de San Agustín, Facultad de Ciencias Naturales y Formales; 2020.
12. Kaper JB, Nataro JP. *Escherichia coli* patógena. *National Library of Medicine*. 2004 febrero; 2(2).
13. Correa Arellano CE. Efecto antibacteriano de la Algarrobina de *Prosopis pallida* sobre *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. Tesis para optar grado de Doctor. Lima - Perú: Universidad San Martín de Porres, Facultad de medicina Humana; 2021.
14. Fica A. Aspectos básicos sobre antimicrobianos I Basics about antimicrobial agents. *Revista Biomédica*. 2005 Marzo; 5(2).
15. Amaguaña F, Churuchumbi E. INGENIERAS EN BIOTECNOLOGÍA DE LOS RECURSOS NATURALES. Quito: UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA SEDE QUITO; 2018.
16. Mónica Cardona, Actividad bactericida in vitro de *Chenopodium quinoa* Willd. y *Artemisia dracunculus* L. sobre bacterias patógenas Universidad Pontificia Bolivariana. Medellín, Colombia 2020.
17. Vinod kumar. Composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial de *Senecio graciliflorus graciliflorus* frente a *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Salmonella typhi*. *Journal of drug delivery and therapeutics*, 2019.



18. Sabry M, Elsayed A y Ahmed A. Efecto *in vitro* del extracto de partes vegetales de *Senecio glaucus* sobre bacterias patógenas. *Biointerface research in Applied chemistry*, 2022.
19. Edwin Sanchez, Walter Saavedra, Actividad Antibacteriana *In Vitro* Del Extracto Hidroalcohólico De Las Hojas De *Senecio canescens* Humb. & Bonpl. Cuatrec. (wila wila) FRENTE A CEPAS DE *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. Lima 2022
20. Alonso Ramos EG. Efecto antibacteriano in vitro del xtracto acuoso de hojas de *Bidens pilosa* (cadillo) rente a *Staphylococcus aureus*. Tesis para obtener titulo profesional. Chimbote - Perú: Universidad Católica Los Angeles de Chimbote; 2019.
21. Muñoz Razo C. Como elaborar y Asesorar una Investigación de Tesis. 2nd ed. Mexico: Pearson; 2011.
22. Huillca L. Evaluación de la actividad antibacteriana in vitro de los liposomas elaborados con el extracto hidroalcohólico al 70% de *Senecio rhizomatus rusby* (tikllaywarmi) frente a *Pseudomona Aeruginosa* cepas ATCC 27853. [Tesis para optar el título Profesional de Químico Farmacéutico]. Cusco
23. OMS OMDIS. Manual de bioseguridad en el laboratorio. 3rd ed. Ginebra: Organizacion Mundial de la Salud; 2005.
24. García Rodriguez J, Cantón R, García Sanchez E, Gómez Lus L, Martínez Martínez L, Rodriguez Avial C, et al. Procedimientos en Microbiología Clínica. Métdos básicos para el estudio de la sensibilidad a los antimicrobianos Picazo JJ, editor. Barcelona: Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica; 2000.
25. Rivera Tineo AK, Vides Sanchez N. Actividad Antibacteriana del extracto etanólico de las hojas de *Fragaria x ananassa* Duch. "fresa" sobre *Sthaphylococcus aureus* Y *Escherichia coli*. Tesis para optar el titulo profesional de Químico Farmacéutico. Lima - Perú: Universidad María Auxiliadora, Facultad de Ciencias de la Salud; 2021.
26. Brunton L, Chabner B, Knollman B. Goodman & Gilman: Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica: Mc Graw Hill; 2018.
27. Díaz Buendía G, Díaz Genebrozo RB. Efecto antibacteriano in vitro del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Moringa oleifera* Lam (moringa) frente a la cepa

- de *Staphylococcus aureus*. Tesis para optar el título profesional de Químico Farmacéutico. Lima - Perú: Universidad María Auxiliadora, Facultad de Ciencias de la Salud; 2021.
28. Bernal M, Guzmán M. El Antibiograma de discos. Normalización de la técnica de Kirby-bauer. Revista del Instituto Nacional de Salud Biomédica. 2018; 4(3-4).
  29. Baez Mamani A, Humpire Parizela RM. Efecto antimicrobiano del aceite esencial de *Theobroma grandiflorum* (Willd. Ex Spreng) K. Schum (COPoazu) frente a bacterias patógenas *S. pyogenes* y *S. aureus*. Tesis para optar el título profesional de Químico Farmacéutico. Lima - Perú: Universidad Maria Auxiliadora, Facultad de Ciencias de la Salud; 2022.
  30. López Casquina J, Lupinta Quicaña IY. Actividad Antibacteriana in vitro del Extracto etanólico de las hojas de *Melissa officinalis* L. (toronjil) frente a la cepa de *Pseudomonas aeruginosa*. Tesis para optar el Título profesional de Químico Farmacéutico. Lima - Perú: Universidad Maria Auxiliadora, Facultad de Ciencias de la salud; 2022.
  31. Ñañez Champi JT, Vivas Osorio EK. Actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico de corteza de *Ficus citrifolia* Mill. frente a cepas de *Escherichia coli* ATCC 8739 y *Pseudomona aeruginosa* ATCC 9027. Tesis para optar el título de Químico Farmacéutico. Lima - Perú: Universidad María Auxiliadora, Facultad de Ciencias de la Salud; 2021.
  32. Sanchez Sánchez EJ. Actividad antibacteriana in vitro del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Senecio canescens* Humb. & Bonpl. Cuatrec. (wila wila) frente a cepas de *staphylococcus aureus* y *escherichia coli*. Tesis para optar el Título Profesional. Lima - Perú: Universidad María Auxiliadora, Facultad de ciencias de la salud; 2022.
  33. C. M. Actividad antifúngica de *Rosmarinus officinalis* (romero) y *Melissa officinalis* (toronjil) contra especies del género *Cándida*, aisladas de pacientes con vulvovaginitis. Quito: Universidad Politécnica Salesiana Sede Quito; 2018.
  34. O LSdU. Investigación fitoquímica : métodos en el estudio de productos naturales. Lima: Pontificia Universidad Católica del Peru. Departamento de Ciencias.; 2016.

35. Britania Lab. Britania. [Online].; 2020 [cited 2022 Mayo 19. Available from: [https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/upl\\_60705c37ec35f.pdf](https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/upl_60705c37ec35f.pdf).
36. OMS. Pautas generales para las metodologías de investigación y evaluación de la medicina tradicional Salud OMdL, editor. Ginebra; 2002.
37. Rocha C, Reynolds N, Simons M. Resistenci emergente a los antibióticos: Una amenaza Global y un Problema Crítico en el cuidado de la salud. Revista Peru Medica. Salud Pública. 2015 Febrero; 1.
38. Ortega David EH. Usos tradicionales de las plantas de la Orinoquia colombiana. Articulo de investigacion. Llanos Orientales - Colombia: Universidad de Los Llanos; 2015.
39. Sanchez Garcia E, Castillo Hernandez S, Garcia Palencia P. Investigación en plantas de importancia médica Barcelona - España: OmniaScience; 2016.
40. Ramirez LS, Castaño D. Metodologias para evaluar In Vitro la Actividad antibacteriana de compuestos de origen vegetal Pereira UTd, editor. Pereira: Scientia et Technica; 2009.
41. Fica A. MedWave Revista Biomedica. [Online].; 2005 [cited 2022 Mayo 6. Available from: <https://www.medwave.cl/link.cgi/Medwave/Reuniones/medicina/2005/2/2522#:~:text=En%20resumen%2C%20la%20actividad%20antimicrobiana,y%20permite%20comparar%20diferentes%20compuestos.>
42. Santamaria C, Martín Gonzales A, Astorga F. European Natural Additives. [Online].; 2015 [cited 2022 Mayo 6. Available from: <https://nutricionanimal.info/download/0315-ena-WEB.pdf>.
43. Cosme Pérez I. El Uso de Plantas Medicinales. Revista Intercultural. 2008 Enero; 1.
44. Escobar Flores AJ, Ccasa Aquipucho ER. Efecto antimicrobiano del extracto de Hojas de Psidium guajava L. (GUAYABA) sobre Staphylococcus aureus ATCC 25923, Escherichia coli ATCC 25922 y Cándida albicans ATCC 10231. Tesis para optar el Título Profesional. Arequipa- Peru: Universidad Privada AUtónoma del Sur, Facultad de Ciencias de la Salud; 2018.

45. Pérez Delgado O, Alvarado Pineda L, Yacarini Martínez E. Actividad antibacteriana in vitro de extracto etanólico crudo de las hojas de *Origanum vulgare*, frente *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 y *Escherichia coli* ATCC 25922. *Scielo. Journal of the Selva Andina Research Society*. 2021 enero; 12(1).
46. Marin Sanchez M, Hincapié Llanos A, Cardona Aristizábal L. Actividad bactericida in vitro de *Chenopodium quinoa* Willd. y *Artemisia dracuncululus* L. sobre bacterias patógenas. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*. 2020 Nov; 25(3).
47. Rivas M, Chinén I, Cabilio Guth BE. *Enterohemorrhagic (Shiga toxinproducing) Escherichia coli*. Texas USA: Springer; 2016.
48. Requejo Ramos M, Callao Rodriguez JL. Actividad antibacteriana in vitro del extracto etanólico de *Datura stramonium* (chamico) y *allium sativum* (ajo) sobre *Staphylococcus aureus*. Tesis para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico. Lima - Perú: Universidad María Auxiliadora, Facultad de ciencias de la Salud; 2021.
49. Barbarán Urresti CF. Evaluación de la actividad antibacteriana in vitro de extractos vegetales de las especies de *Tabernaemontana* frente a cepas de *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*, de la región Loreto, Perú. Tesis de Grado. Loreto Perú: Universidad Nacional De La Amazonía Peruana; 2014.
50. Montero Recalde M, Vayas L, Avilés Esquivel D, Pazmiño P, Erazo Gutierrez V. Evaluación de dos métodos para medir la sensibilidad de inhibición de crecimiento de la cepa certificada de *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus*. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*. 2018 Noviembre; 29(4).
51. Guerra Corado E. Obtención, caracterización y evaluación de las propiedades físicoquímicas de los extractos fluidos, blandos y secos así como de las. Tesis para optar título profesional de Ingeniero Químico. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala, Escuela de Ingeniería Química; 2005.

## ANEXOS

### Anexo A: Matriz de consistencia

Formulación del problema	Objetivos	Hipótesis
<b>Problema General</b>	<b>Objetivo General</b>	<b>Hipótesis General</b>
¿Cuál es el efecto antibacteriano in vitro que presenta el extracto hidroalcohólico de la raíz de <i>Paranephelium uniflorum poepp &amp; Endl</i> (Chawi) frente a cepas ATCC de <i>Escherichia coli</i> 25922 y <i>Stafilococcus aureus</i> 25923?	Conocer el efecto antibacteriano in vitro que presenta el extracto hidroalcohólico de la raíz de <i>Paranephelium uniflorum poepp &amp; Endl</i> (Chawi) frente a cepas ATCC de <i>Escherichia coli</i> 25922 y <i>Stafilococcus aureus</i> 25923.	El extracto hidroalcohólico de la raíz de <i>Paranephelium uniflorum poepp &amp; Endl</i> (Chawi) presenta efecto antibacteriano in vitro frente a cepas ATCC de <i>Escherichia coli</i> 25922 y <i>Stafilococcus aureus</i> 25923.
<b>Problemas Específicos</b>	<b>Objetivos Específicos</b>	<b>Hipótesis Específicas</b>
¿Cuál es el efecto antibacteriano in vitro que presenta el extracto hidroalcohólico de la raíz de <i>Paranephelium uniflorum poepp &amp; Endl</i> (Chawi) frente a cepa ATCC de <i>Escherichia coli</i> 25922?	Determinar el efecto antibacteriano in vitro que presenta el extracto hidroalcohólico de la raíz de <i>Paranephelium uniflorum poepp &amp; Endl</i> (Chawi) frente a cepa ATCC de <i>Escherichia coli</i> 25922.	El extracto hidroalcohólico de la raíz de <i>Paranephelium uniflorum poepp &amp; Endl</i> (Chawi) presenta efecto antibacteriano in vitro frente a cepa ATCC de <i>Escherichia coli</i> 25922.
¿Cuál es el efecto antibacteriano in vitro que presenta el extracto hidroalcohólico de la raíz de <i>Paranephelium uniflorum poepp &amp; Endl</i> (Chawi) frente a cepa ATCC de <i>Stafilococcus aureus</i> 25923?	Determinar el efecto antibacteriano in vitro que presenta el extracto hidroalcohólico de la raíz de <i>Paranephelium uniflorum</i> (Chawi) frente a cepa ATCC de <i>Stafilococcus aureus</i> 25923.	El extracto hidroalcohólico de la raíz de <i>Paranephelium uniflorum</i> (Chawi) presenta efecto antibacteriano in vitro frente a cepa <i>Stafilococcus aureus</i> 25923.
¿Cuál es el efecto antibacteriano in vitro que presenta el extracto hidroalcohólico de la raíz de <i>Paranephelium uniflorum poepp &amp; Endl</i> (Chawi) frente a cepas ATCC de <i>Escherichia coli</i> 25922 y <i>Stafilococcus aureus</i> 25923 en comparación con la ciprofloxacina?	Conocer el efecto antibacteriano in vitro que presenta el extracto hidroalcohólico de la raíz de <i>Paranephelium uniflorum poepp &amp; Endl</i> (Chawi) frente a cepas ATCC de <i>Escherichia coli</i> 25922 y <i>Stafilococcus aureus</i> 25923 en comparación con la ciprofloxacina.	El extracto hidroalcohólico de la raíz de <i>Paranephelium uniflorum poepp &amp; Endl</i> (Chawi) presenta mejor efecto antibacteriano in vitro frente a cepas ATCC de <i>Escherichia coli</i> 25922 y <i>Stafilococcus aureus</i> 25923 en comparación con la ciprofloxacina.

## Anexo B: Operacionalización de las variables

VARIABLES	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	DIMENSIONES	INDICADORES	ESCALA DE MEDICIÓN	N° DE ÍTEMS		
Independiente: Extracto hidroalcohólico de las raíces de <i>Paranephelium uniflorum poepp &amp; Endl.</i> "chawi".	Concentraciones al 5%, 10%, 20%, 40%, 80% y 100% <i>Paranephelium uniflorum poepp &amp; Endl.</i> (chawi).	Extracto elaborado de la raíz de <i>Paranephelium uniflorum poepp &amp; Endl.</i> (chawi) obtenida por maceración con etanol 70 %.	Concentración	Porcentaje	%	6		<b>VALOR</b>
Dependiente: Actividad antibacteriana sobre <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Escherichia coli.</i>	Disminución o inhibición del crecimiento bacteriano por parte de la exposición a una sustancia (26) (27).	Disminución o inhibición del crecimiento bacteriano por empleo del extracto hidroalcohólico de las raíces de <i>Paranephelium uniflorum poepp &amp; Endl.</i> "chawi".	Halos de inhibición	Diámetro del halo de inhibición	mm	4	<8 mm: nulo 8 – 14 mm: Sensible 14 – 20 mm: Muy sensible >20 mm: Sumamente sensible	5%, 10%, 20%, 40%, 80% 100%

## Anexo C: Certificado de clasificación taxonómica



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN AGUSTÍN  
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE BIOLOGÍA  
HERBARIUM AREQVIPENSE (HUSA)



### CONSTANCIA N°10-2022-HUSA

El director del *Herbarium Arequipense* (HUSA) de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa.

HACE CONSTAR:

Que la muestra biológica presentada por Carlos Marco Huisa Quispe y Rossmary Jackeline Osco Bustios bachilleres de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad María Auxiliadora, para la realización del Proyecto de investigación: "EVALUACION DE *Paranephelius uniflorus* (Chawi) FRENTE A CEPA ATCC DE *Escherichia coli* y *Stafilococcus aureus* ". La muestra fue enviada al laboratorio de Botánica al estado fenológico fresco, para su determinación en el Herbarium Arequipense (HUSA) y corresponde a la siguiente especie.

<b>BDivision</b>	<b>Magnoliophyta</b>
<b>Clase</b>	<b>Magnoliopsidae</b>
<b>Subclase</b>	<b>Asteridae</b>
<b>Orden</b>	<b>Asterales</b>
<b>Familia</b>	<b>Asteraceae</b>
<b>Subfamilia</b>	<b>Cichorioideae</b>
<b>Genero</b>	<b>Paranephelius</b>
<b>Especie</b>	<b>Paranephelius uniflorus</b> Poepp & Endl.

Se le expide la presente a solicitud del interesado

Mg. Leoncio Mariño Herrera  
DIRECTOR  
*Herbarium Arequipense* (HUSA)

Arequipa, 26 de mayo del 2022

## Anexo D: Carta de aceptación

INDUSTRIAS MÉDICAS Y FARMACÉUTICAS S.R.L.  
Urb. José Santos Atahualpa Mz. F lote 09 Cerro Colorado – Arequipa

037 - 2022

“Año del Fortalecimiento de la Soberanía Nacional”

### CARTA DE ACEPTACION



El que suscribe, WILBER CARLOS BENITO ICHOCAN, Gerente General de Industrias Médicas y Farmacéuticas S.R.L.

#### HACE CONSTAR:

Que Huisa Quispe Carlos Marco y Oscco Bustíos Rossmory Jackeline, bachilleres de la Escuela de Farmacia y Bioquímica han sido aceptados por este laboratorio para realizar la ejecución de su trabajo de investigación “EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DEL EXTRACTO HIDROALCOHOLICO DE *Paranephelium uniflorus poepp & Endl.* (CHAWI) FRENTE A CEPAS ATCC DE *Escherichia coli* y *Stafilococcus aureus*” en nuestras instalaciones.

Arequipa, 10 de Agosto del 2022

Wilber Carlos Benito Ichocan  
GERENTE GENERAL

Laboratorio de Producción y de Control de Calidad Físico Químico y Microbiológico



“Año del Fortalecimiento de la Soberanía Nacional”

**CONSTANCIA**



El que suscribe Sr. Wilber Carlos Benito Ichocán, Gerente General de Industrias Médicas y Farmacéuticas S.R.L. hace constar que los señores:

*Sr. Huisa Quispe Carlos Marco*

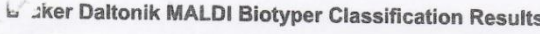

*Srta. Oscco Bustíos Rossmory Jackeline*

Bachilleres de la Escuela de Farmacia y Bioquímica, culminaron su trabajo de investigación “**EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DEL EXTRACTO HIDROALCOHOLICO DE *Paranephelium uniflorus poepp & Endl.* (CHAWI) FRENTE A CEPAS ATCC DE *Escherichia coli* y *Stafilococcus aureus***” en las instalaciones del laboratorio Industrias Medicas y Farmaceuticas, en el periodo comprendido Agosto 2022 a la fecha del 15 de Setiembre del 2022, cumpliendo con los horarios establecidos y los protocolos correspondientes.

Se expide la presente por solicitud de los interesados para los fines que consideren por conveniente

  
Wilber Carlos Benito Ichocan  
GERENTE GENERAL

**Anexo E: Certificado de calidad de Staphylococcus aureus ATCC 2593 y de Escherichia coli ATCC 25922**

**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: 2021-05-11T14:31:10.846 JLM  
 Applied MSP Library(ies): BDAL, Mycobacteria Library (bead method), Filamentous Fungi Library


Sample Name	Sample ID	Organism (best match)	Score Value
A5 (+++) (A)	360-529	Staphylococcus aureus	2.49

Comments:

N/A
-----

Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

<p><b>Specifications</b>  <b>Microorganism Name:</b> Staphylococcus aureus subsp. aureus  <b>Catalog Number:</b> 0360  <b>Lot Number:</b> 360-529**  <b>Reference Number:</b> ATCC® 25923™*  <b>Passage from Reference:</b> 3</p>	<p><b>Expiration Date:</b> 2023/4/30  <b>Release Information:</b>  <b>Quality Control Technologist:</b> Jackie L Mackedanz  <b>Release Date:</b> 2021/5/19</p>
---	--

Performance	
<p><b>Macroscopic Features:</b>                      Medium to large, convex, entire edge, both white and pale white colonies, smooth, opaque, beta hemolytic</p> <p><b>Microscopic Features:</b>                      Gram positive cocci occurring singly, in pairs and in irregular clusters</p>	<p><b>Medium:</b>                      SBAP</p> <p><b>Method:</b>                      Gram Stain (1)</p>
<p><b>ID System:</b> MALDI-TOF (1)                      See attached ID System results document.</p>	<p><b>Other Features/ Challenges: Results</b>                      (1) Catalase (3% Hydrogen Peroxide): positive                      (1) Coagulase (rabbit plasma - tube): positive                      (1) Beta Lactamase (Cefinase Disk): negative                      (1) Ampicillin (10 mcg - Disk Susceptibility): 27 - 35 mm                      (1) Penicillin (10 units - Disk Susceptibility): 26 - 37 mm                      (1) Oxacillin (1 mcg - Disk Susceptibility): 18 - 24 mm</p> <div style="text-align: center;">                       Amanda Kuperus                      Quality Control Manager                      AUTHORIZED SIGNATURE                 </div>

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

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

Individual products are traceable to a recognized culture collection.



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

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



**Bruker Daltonik MALDI Biotyper Classification Results**



**Meaning of Score Values**

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

**Meaning of Consistency Categories (A - C)**

Category	Interpretation
(A)	<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: 2021-08-12T10:12:59.842 KG  
 Applied MSP Library(ies): BDAL, Mycobacteria Library (bead method), Filamentous Fungi Library

Sample Name	Sample ID	Organism (best match)	Score Value
G6 (+++) (A)	335-530	Escherichia coli	2.42

**Comments:**

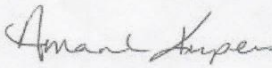
closely related to Shigella / Escherichia fergusonii and not definitely distinguishable at the moment



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> 335-530** <b>Reference Number:</b> ATCC® 25922™* <b>Passage from Reference:</b> 3	<b>Expiration Date:</b> 2023/7/31 <b>Release Information:</b> <b>Quality Control Technologist:</b> Kavitha Gobalan <b>Release Date:</b> 2021/9/3
---	---

<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>Medium:</b> SBAP
<b>Microscopic Features:</b> Gram negative straight rod	<b>Method:</b> Gram Stain (1)

<b>ID System: MALDI-TOF (1)</b> 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

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

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

Individual products are traceable to a recognized culture collection.



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

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



**Anexo F: Halos de sensibilidad para los tratamientos del extracto hidroalcohólico de *Paranephelius uniflorus* Poepp & Endl. Frente a *E. coli* 25922.**

Tratamiento	Repeticiones				
	1	2	3	4	5
Halos de sensibilidad (mm)					
5% EH <i>P. uniflorus</i>	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0
10% EH <i>P. uniflorus</i>	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0
20% EH <i>P. uniflorus</i>	8,0	7,0	7,8	8,0	8,0
40% EH <i>P. uniflorus</i>	9,0	9,5	10,2	10,0	10,5
60% EH <i>P. uniflorus</i>	13,0	13,5	13,0	12,5	13,5
80% EH <i>P. uniflorus</i>	18,0	17,5	17,9	18,0	19,0
100% EH <i>P. uniflorus</i>	22,5	21,5	22,0	22,0	21,0
Ciprofloxacino	25,0	25,0	25,0	25,0	25,0
Blanco	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0

**Anexo G: Prueba de normalidad y homocedasticidad para los tratamientos de del extracto hidroalcohólico de *Paranephelius uniflorus* Poepp & Endl. Frente a *E. coli* 25922.**

Tratamiento	Estadístico Shapiro		
	Wilk	gl	Sig.
5% EH <i>P. uniflorus</i>		5	
10% EH <i>P. uniflorus</i>		5	
20% EH <i>P. uniflorus</i>	0,676	5	0,005
40% EH <i>P. uniflorus</i>	0,963	5	0,827
60% EH <i>P. uniflorus</i>	0,881	5	0,314
80% EH <i>P. uniflorus</i>	0,849	5	0,192
100% EH <i>P. uniflorus</i>	0,961	5	0,814
Ciprofloxacino		5	
Blanco		5	

Sig.=Un valor  $p < 0,05$  indica que no existe normalidad

Medida de tendencia central	Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
Se basa en la media	4,663	8	36	0,001
Se basa en la mediana	2,069	8	36	0,065
Se basa en la mediana y con gl ajustado	2,069	8	18,575	0,094
Se basa en la media recortada	4,286	8	36	0,001

Sig.=Un valor  $p < 0,05$  indica que no existe homogeneidad de varianzas

**Anexo H: Halos de sensibilidad para los tratamientos del extracto hidroalcohólico de *Paranephelium uniflorus* Poepp & Endl. Frente a *S. aureus* 25923.**

Tratamiento	Repeticiones				
	1	2	3	4	5
	Halos de sensibilidad (mm)				
5% EH <i>P. uniflorus</i>	6	6	6	6	6
10% EH <i>P. uniflorus</i>	6	6	6	6	6
20% EH <i>P. uniflorus</i>	7,5	7	7,8	8	8
40% EH <i>P. uniflorus</i>	10	9,5	10	9,5	10
60% EH <i>P. uniflorus</i>	13	13,5	13	12,5	13,5
80% EH <i>P. uniflorus</i>	15	15,5	15	16	15
100% EH <i>P. uniflorus</i>	16,5	17	17	16	16,5
Ciprofloxacino	25	25	25	25	25
Blanco	6	6	6	6	6



**Anexo I: Prueba de normalidad y homocedasticidad para los tratamientos del extracto hidroalcohólico de *Paranephelius uniflorus* Poepp & Endl. Frente a *S. aureus* 25923.**

Tratamiento	Estadístico		
	Shapiro-Wilk	gl	Sig.
5% EH <i>P. uniflorus</i>		5	
10% EH <i>P. uniflorus</i>		5	
20% EH <i>P. uniflorus</i>	0,676	5	0,251
40% EH <i>P. uniflorus</i>	0,963	5	0,006
60% EH <i>P. uniflorus</i>	0,881	5	0,314
80% EH <i>P. uniflorus</i>	0,849	5	0,046
100% EH <i>P. uniflorus</i>	0,961	5	0,314
Ciprofloxacino		5	
Blanco		5	

Sig.=Un valor  $p < 0,05$  indica que no existe normalidad

Medida de tendencia central	Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
Se basa en la media	7,134	8	36	$1,274 \times 10^{-05}$
Se basa en la mediana	1,990	8	36	$7,606 \times 10^{-02}$
Se basa en la mediana y con gl ajustado	1,990	8	16,328	$1,135 \times 10^{-01}$
Se basa en la media recortada	6,879	8	36	$1,825 \times 10^{-05}$

Sig.=Un valor  $p < 0,05$  indica que no existe homogeneidad de varianzas

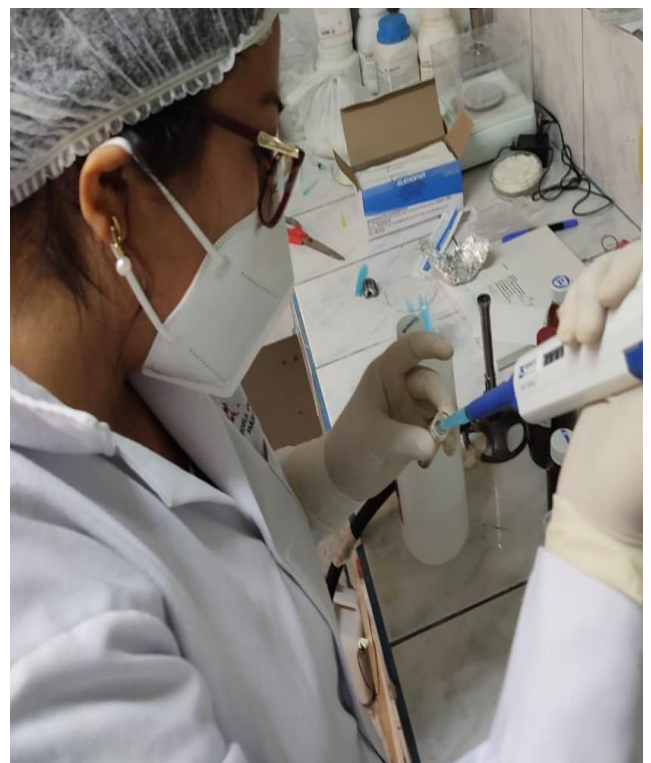
## Anexo J: Evidencias del trabajo de campo



Figura 2. Recolección de la especie vegetal *Paranephelius uniflorus* poepp & Endl.

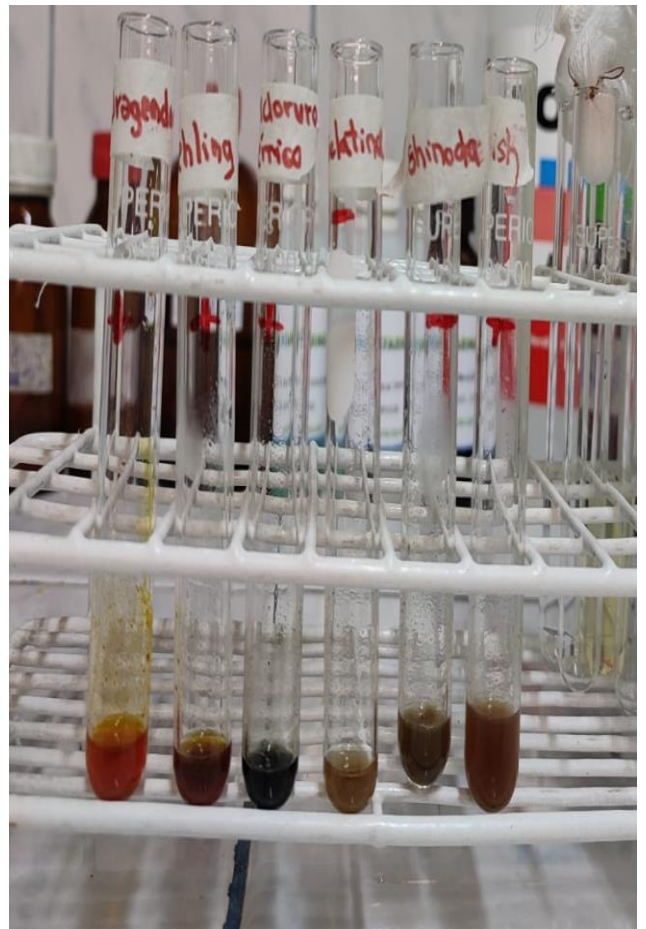


Figura 3 Extracto hidroalcolico de *Paranephelius uniflorus poepp & Endl.*





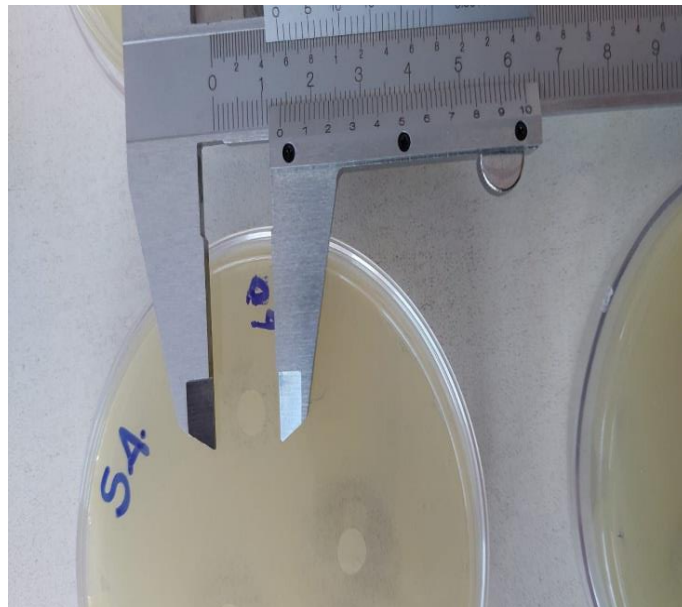
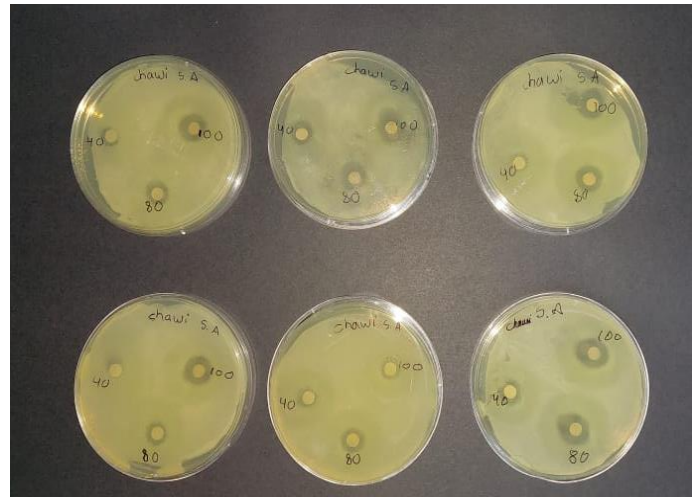
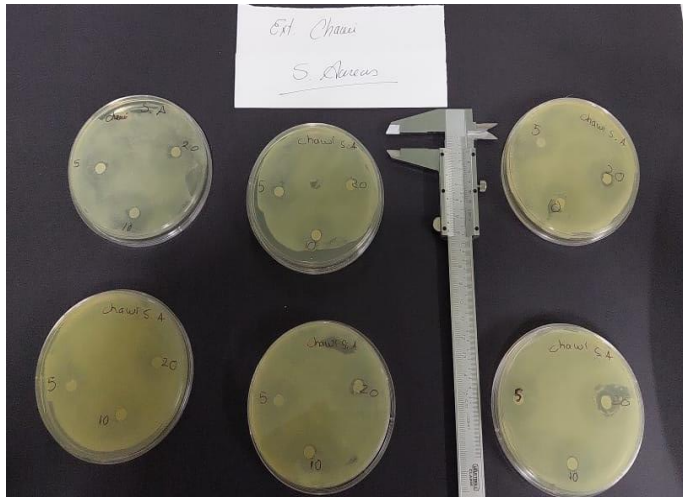
**Figura 4. Prueba de solubilidad de extracto hidroalcoholico de *Paranephelius uniflorus poepp & Endl.***



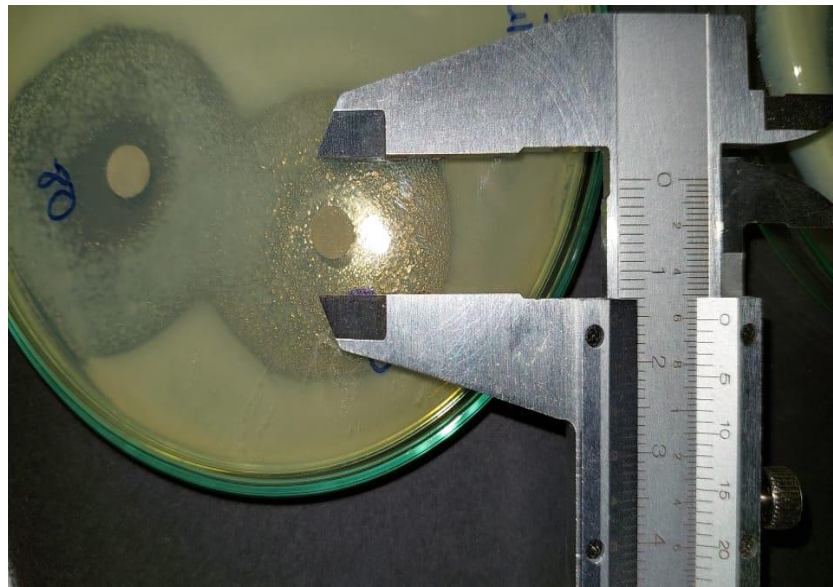
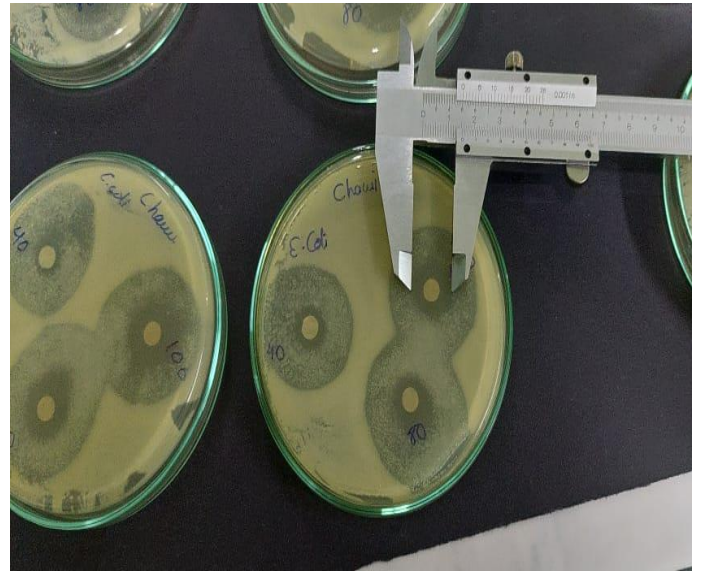
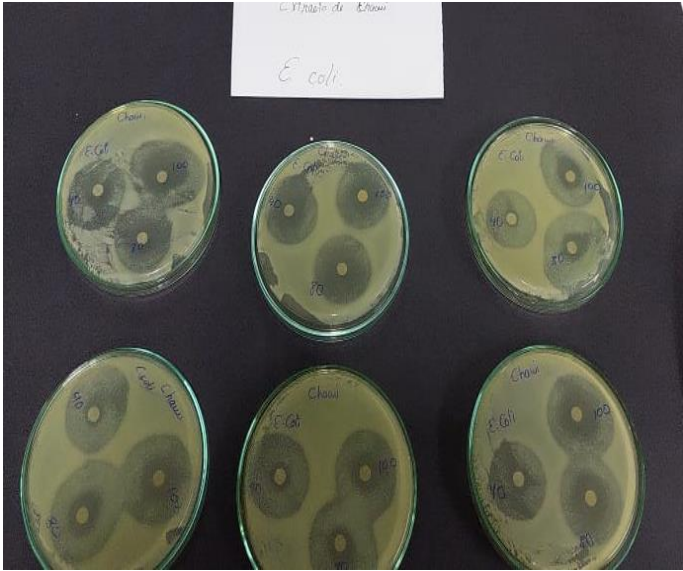
**Figura 5. Marcha fotoquímica del extracto hidroalcoholico de *Paranephelius uniflorus poepp & Endl.***



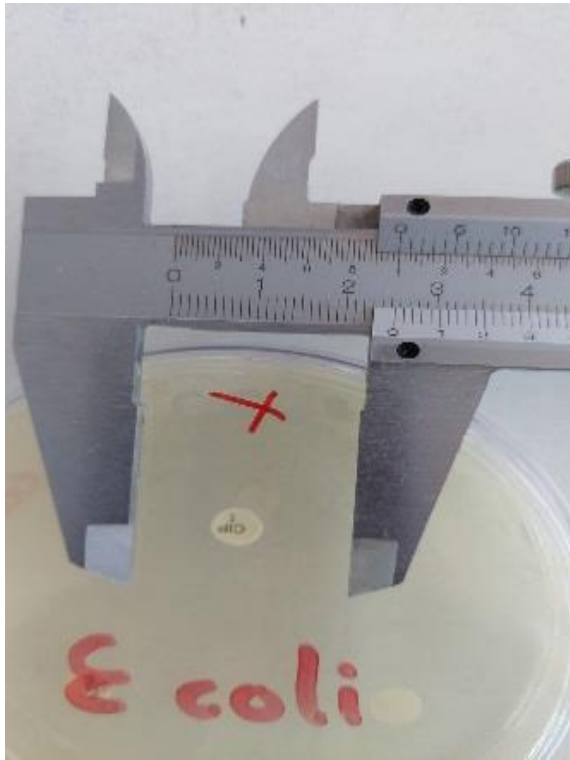
**Figura 6. Preparación de los medios de cultivo**



**Figura 7. Actividad antimicrobiana del extracto extracto hidroalcoholico de *Paranephelius uniflorus poepp & Endl.* Frente a cepas de *Staphylococcus aureus***



**Figura 8. Actividad antimicrobiana del extracto extracto hidroalcoholico de *Paranephelius uniflorus poepp & Endl.* Frente a cepas de *Escherichia coli.***



**Figura 9. Control positivo (ciprofloxacino 5ug ) Frente a cepas de Escherichia coli y Staphylococcus aureus**