



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

**“EFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL EXTRACTO
ETANÓLICO DEL MESOCARPIO DE *Solanum sessiliflorum*
Dunal (Cocona) FRENTE A *Proteus mirabilis* ATCC 29906”**

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE QUÍMICO
FARMACÉUTICO

AUTORES

Bach. RAMOS LAZARO ANDRES
<https://orcid.org/0000-0003-1372-3446>

Bach. RIVERA GUERRERO MAYELY LIZETH
<https://orcid.org/0009-0005-2259-4158>

ASESOR

Mg. LA SERNA LA ROSA, PABLO ANTONIO
<https://orcid.org/0000-0001-7065-012X>

LIMA – PERÚ

2023

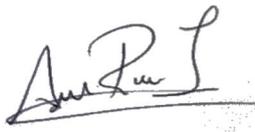
AUTORIZACIÓN Y DECLARACIÓN JURADA DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD

Yo, RAMOS LÁZARO ANDRÉS, con DNI 43156546, en mi condición de autor de la tesis presentada para optar el TÍTULO PROFESIONAL de QUÍMICO FARMACÉUTICO de título EFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DEL MESOCARPIO DE

Solanum sessiliflorum Dunal (Cocona) FRENTE A *Proteus mirabilis* ATCC 29906", AUTORIZO a la Universidad María Auxiliadora (UMA) para reproducir y publicar de manera permanente e indefinida en su repositorio institucional, bajo la modalidad de acceso abierto, el archivo digital que estoy entregando, en cumplimiento a la Ley N°30035 que regula el Repositorio Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación de acceso abierto y su respectivo Reglamento.

Asimismo, DECLARO BAJO JURAMENTO que dicho documento es ORIGINAL con un porcentaje de similitud de 17% y que se han respetado los derechos de autor en la elaboración del mismo. Además, recalcar que se está entregando la versión final del documento sustentado y aprobado por el jurado evaluador.

En señal de conformidad con lo autorizado y declarado, firmo el presente documento a los 05 días del mes de enero del año 2023.



ANDRES RAMOS LÁZARO

DNI: 43156546



Mq. PABLO ANTONIO LA SERNA LA ROSA

DNI: 06121495

AUTORIZACIÓN Y DECLARACIÓN JURADA DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD

Yo, RIVERA GUERRERO MAYELY LIZETH, con DNI 47271933, en mi condición de autora de la tesis presentada para optar el TÍTULO PROFESIONAL de QUÍMICO FARMACÉUTICO de título "EFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL EXTRACTO

ETANÓLICO DEL MESOCARPIO DE *Solanum sessiliflorum* Dunal (Cocona) FRENTE A *Proteus mirabilis* ATCC 29906", AUTORIZO a la Universidad María Auxiliadora (UMA) para reproducir y publicar de manera permanente e indefinida en su repositorio institucional, bajo la modalidad de acceso abierto, el archivo digital que estoy entregando, en cumplimiento a la Ley N° 30035 que regula el Repositorio Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación de acceso abierto y su respectivo Reglamento.

Asimismo, DECLARO BAJO JURAMENTO que dicho documento es ORIGINAL con un porcentaje de similitud de 17% y que se han respetado los derechos de autor en la elaboración del mismo. Además, recalcar que se está entregado la versión final del documento sustentado y aprobado por el jurado evaluador.

En señal de conformidad con lo autorizado y declarado, firmo el presente documento a los 05 días del mes de enero del año 2023.

(Mayely Lizeth Rivera Guerrero)
ROSA

DNI: 47271933

Mg. PABLO ANTONIO LA SERNA LA

DNI: 06121495

TESIS COCONA PROTEUS

INFORME DE ORIGINALIDAD



FUENTES PRIMARIAS



Excluir citas Activo
Excluir bibliografía Activo

Excluir coincidencias < 1%

DEDICATORIA

Dedico esta proposición a mis padres, que me han apoyado para llegar a esta fase de mis exámenes, ya que siempre han estado ahí para ayudarme ética y mentalmente.

Asimismo, se la dedico a mi hijo, que ha sido mi mayor inspiración para no rendirme nunca en mis exámenes y ser un modelo para él. para convertirme en un modelo para él.

AGRADECIMIENTO

A Dios, por guiarnos hasta este momento de nuestras vidas en la cual vamos a empezar una nueva etapa profesional.

A nuestros padres, por ser nuestros pilares en los momentos que más los necesitábamos y por alentarnos a seguir adelante.

En particular, a las personas que nos abrieron camino y compartieron sus conocimientos.

ÍNDICE GENERAL

	Páginas
Resumen	viii
Abstract	ix
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MATERIALES Y MÉTODOS	8
2.1. Enfoque y diseño de la investigación	8
2.2. Población, muestra y muestreo	8
2.3. Variables de investigación	9
2.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos	9
2.5. Proceso de recolección de datos	9
2.6. Métodos de análisis estadístico	12
2.7. Aspectos éticos	12
III. RESULTADOS	13
IV. DISCUSIÓN	19
4.1. Discusión de resultados	19
4.2. Conclusiones	21
4.3. Recomendaciones	22
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	23
ANEXOS	29

ÍNDICE DE TABLAS

	Páginas
Tabla 1. Ensayo de solubilidad	13
Tabla 2. Tamizaje fitoquímico	14
Tabla 3. Halos de inhibición de ensayo microbiológico en <i>Proteus mirabilis</i> ATCC 29906	15
Tabla 4. Estadísticos descriptivos de los resultados del ensayo microbiológico.	14
Tabla 5. Comparación de medias por el ANOVA	14
Tabla 6. Comparaciones múltiples por la prueba de Tukey	18

ÍNDICE DE FIGURAS

		Páginas
Figura 1.	Selección de la muestra del mesocarpio de <i>Solanum sessiliflorum dunal (cocona)</i>	41
Figura 2.	Procedimiento de lavado de la muestra de <i>Solanum sessiliflorum dunal (cocona)</i>	42
Figura 3.	Procedimiento de secado de la muestra de <i>Solanum sessiliflorum dunal (cocona)</i>	44
Figura 4.	Procedimiento de molienda de la muestra de <i>Solanum sessiliflorum dunal (cocona)</i>	44
Figura 5.	Preparación del macerado del extracto etanoico de <i>Solanum sessiliflorum dunal (cocona)</i>	45
Figura 6.	Procedimiento de filtración del macerado del extracto etanólico de <i>Solanum sessiliflorum dunal (cocona)</i>	46
Figura 7.	Obtención del extracto seco de <i>Solanum sessiliflorum dunal (cocona)</i>	46
Figura 8.	Preparación de Medio de Cultivo	50
Figura 9.	Activación de la cepa de <i>Proteus mirabilis ATCC 29906</i>	51
Figura 10.	Inoculación de placas	52
Figura 11.	Preparación de discos de sensibilidad	53
Figura 12.	Colocación del disco	56
Figura 13.	Incubación	57
Figura 14.	Lectura de resultados	57

Índice de Anexos

	Páginas
ANEXO A. Instrumento de recolección de datos	29
ANEXO B. Matriz de consistencia	31
ANEXO C. Operacionalización de variables	32
ANEXO D. Certificado taxonómico	33
ANEXO E. Informe de análisis de laboratorio	34
ANEXO F. Certificado de Agar Mueller Hinton	35
ANEXO G. Certificado de análisis de <i>Cepa Proteus mirabilis</i>	39
ANEXO H. Evidencias fotográficas	41

RESUMEN

Objetivo: Determinar la actividad antibacteriana in vitro del extracto etanólico del mesocarpio de *Solanum sessiliflorum* Dunal (Cocona) frente a *Proteus mirabilis* ATCC 29906

Materiales y métodos: Investigación de enfoque cuantitativo, tipo experimental, explicativo, transversal, población de 10 kilos de frutos de *Solanum sessiliflorum* Dunal (cocona) y cepa de *Proteus mirabilis* ATCC 29906, por otro lado, la muestra estuvo constituida por 6 kg de mesocarpio o pulpa. El procedimiento fitoquímico fue la marcha fitoquímica, se utilizó 0,5 g de extracto seco en los 14 tubos de ensayos según la metodología de Olga Lock y el método microbiológico usado fue el de difusión en pozos (Kirby Bauer modificado) y estuvo constituida de los grupos experimentales al 25 %, 50 % y 75 %, grupo control Ciprofloxacino 25 µg y Etanol 70 %.

Resultados: Los metabolitos secundarios que se detectaron en la prueba del tamizaje fitoquímico del extracto etanólico del mesocarpio de *Solanum sessiliflorum* Dunal (Cocona) fueron las lactonas α , β -insaturadas, compuestos fenólicos, antocianinas y saponinas; antraquinonas, terpenos y esteroides, alcaloides y flavonoides.

Por otro lado, mediante la prueba de ANOVA ($p < 0,05$) y Tukey, se demostró como resultado diferencia estadísticamente significativa entre los grupos experimentales al 25 %, 50 % y 75 % y Etanol, frente a *Proteus mirabilis* ATCC 29906

Conclusión: El extracto etanólico del mesocarpio de *Solanum sessiliflorum* Dunal (Cocona) presenta actividad antibacteriana frente a *Proteus mirabilis* ATCC 29906.

Palabras clave: *Solanum sessiliflorum* Dunal; antibacteriano; extracto etanólico

ABSTRACT

Objective: To determine the in vitro antibacterial activity of the ethanolic extract of the mesocarp of *Solanum sessiliflorum* Dunal (Cocona) against *Proteus mirabilis* ATCC 29906

Materials and methods: Research with a quantitative approach, experimental, explanatory, cross-sectional, population of 10 kilos of *Solanum sessiliflorum* Dunal (cocona) fruits and *Proteus mirabilis* ATCC 29906 strain, on the other hand, the sample consisted of 6 kg of mesocarp or pulp. The phytochemical procedure was the phytochemical march, 0.5 g of dry extract was obtained in the 14 test tubes according to Olga Lock's methodology and the microbiological method used was diffusion in wells (modified Kirby Bauer) and consisted of the following experimental groups at 25%, 50% and 75%, control group Ciprofloxacin 25 µg and Ethanol 70%.

Results: The secondary metabolites that were detected in the phytochemical screening test of the ethanolic extract of the *Solanum sessiliflorum* Dunal (Cocona) mesocarp were α , β -unsaturated lactones, phenolic compounds, anthocyanins and saponins; anthraquinones, terpenes and steroids, alkaloids and flavonoids.

On the other hand, using the ANOVA test ($p < 0.05$) and Tukey, a statistically significant difference was produced between the experimental groups at 25%, 50% and 75% and Ethanol, compared to *Proteus mirabilis* ATCC 29906.

Conclusion: The ethanolic extract of the mesocarp of *Solanum sessiliflorum* Dunal (Cocona) presents antibacterial activity against *Proteus mirabilis* ATCC 29906.

Keywords: *Solanum sessiliflorum* Dunal; antibacterial; ethanolic extract

I. INTRODUCCIÓN

Las enterobacterias son un amplio grupo de procariotas que se les denomina gammaproteobacterias y se caracterizan por no ser formadores de esporas, estos se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza e incluso forman parte del microbiota presente en el intestino de los seres humanos y otros animales incluso en los insectos, en donde son causantes de patologías intestinales y extraintestinales.^{1,2} Uno de las especies que pertenece a este grupo es *Proteus mirabilis*, agente etiológico de amplia variedad de patologías a nivel cutáneo, gastrointestinal, pero sobre genera una enfermedad a nivel de las vías urinarias la cual se denomina infección del tracto urinario asociado a catéter y afecta principalmente a los adultos mayores.³

La prevalencia a nivel mundial de esta bacteria se encuentra muy bien reportada, ya que existe reportes tanto en países desarrollados como en subdesarrollados, algunos informes provienen de países como China en donde se ha evidenciado que la intoxicación alimentaria a causa de este microorganismo representa el 3, 61 % de todos incidentes relacionados a alimentos⁴, en India se halló que de 65 muestras de orina de pacientes con infección urinaria el 10, 7 % tuvo la presencia de esta bacteria⁵, en Irak se hallaron muestras *Proteus mirabilis* con resistencia a los antibióticos en el 100 % de pacientes diabéticos de un hospital local⁶, en Japón se reportó que la resistencia de este microorganismo contra antibióticos del grupo de las quinolonas sigue en aumento desde el año 2002⁷, en Francia el 26, 9 % de los aislamientos de esta bacteria provenientes de diferentes hospitales confirmó la resistencia contra antibióticos betalactámicos como las penicilinas⁸, mientras que en Nigeria el 7 % de las mujeres embarazadas presento infección urinaria a causa de *P. mirabilis*⁹ y en Estados Unidos esta bacteria se halló en el 2 % de pacientes a nivel nacional.¹⁰

En el Perú un estudio realizado en una clínica indico que esta bacteria afecta al 1,7 y 3,4 % de pacientes internados y ambulatorios respectivamente¹¹, mientras que otro trabajo de investigación determino que *Proteus mirabilis* fue uno de los patógenos más previamente en ocasionar infecciones en pacientes mujeres.¹² Ha pesar que la prevalencia no es tan elevada como en otros países los autores han indicado que, al no existir reportes locales sobre esta bacteria, esto provocaría los

aumentos en la morbilidad en pacientes, principalmente geriátricos, que sufren infecciones a causa de esta bacteria.¹¹

En los últimos cinco años ya se ha estado evaluando el uso de diversas sustancias químicas, tales como fármacos, productos naturales, entre otros, para el tratamiento eficaz y seguro contra este microorganismo, pero algunos de estos tratamientos no solo no se encuentran disponibles en nuestro país, sino que también no estarían al alcance de todos los usuarios que lo requieran, como por ejemplo la terapia con bacteriófagos.^{13,14}

Por otro lado, también se ha reportado que cada vez son los antibióticos que han perdido eficacia en la erradicación de este microorganismo, tales como cloranfenicol, ciprofloxacino, trimetoprima-sulfametoxazol y algunos betalactámicos, lo que significa que la resistencia en contra de los antibióticos está aumentando.¹⁵

Es por ello que se requiere evaluar nuevas alternativas en el tratamiento de infecciones ocasionadas por *Proteus mirabilis*, la cual cada vez adquiere mayor resistencia. Por lo tanto, la Organización Mundial de la Salud (OMS) sugiere que tomen acciones coordinadas como por ejemplo la inversión e incentivación en el estudio de nuevas moléculas con propiedades antibacterianas las cuales pueden estar presentes en los productos naturales¹⁶ como las plantas que habitan en diferentes regiones de nuestro país y que cada vez van tomando más protagonismo en el área de la medicina.

Proteus mirabilis es una bacteria gramnegativa con forma de bastón que existe ampliamente en el medio natural y que destaca por su motilidad en forma de enjambre y su actividad ureásica. Es considerado como agente etiológico de infecciones complicadas del tracto urinario (ITU), especialmente de las asociadas a catéteres. Clínicamente, forma una biopelícula cristalina en la superficie exterior y en la cavidad interior del catéter permanente uretral debido a su biomineralización ureolítica. Esto provoca la incrustación y el bloqueo de la sonda y, en la mayoría de los casos, se acompaña de retención de orina e ITU ascendente, causando cistitis, pielonefritis y el desarrollo de cálculos vesicales o renales, o incluso complicaciones mortales como la septicemia y el shock endotóxico.^{17,18} *P. mirabilis* fue sensible a una amplia variedad de antibióticos pero en los últimos años ha ido adquiriendo una mayor resistencia hacia los efectos de estos, en un inicio se utilizaban

carbapenémicos como principal pilar para su tratamiento pero esto ha cambiado luego del descubrimiento de algunas cepas productoras de carbapenemasas.¹⁹

Cocona (*Solanum sessiliflorum* Dunal) es un arbusto que crece en la región amazónica de nuestro país y es conocida también como cucuna, maná o tomate de indio, esta planta tiene un fruto que es utilizado en la gastronomía de ciertas regiones ya que con él se puede preparar jugos, jaleas, etc. Pero también posee un importante aporte terapéutico ya que diversas partes del fruto presentan actividad anticancerígena, antiinflamatoria, antimicrobiana y antioxidante, esto se debe a la presencia de fitoconstituyente químicos tales como compuestos fenólicos, carotenoides, cumarinas, antocianinas, taninos, entre otros. Además, son una importante de nutrientes ya que presentan minerales como selenio, fósforo y hierro.^{20,21}

Entre los antecedentes nacionales están los estudios de:

Alvia C y Olortegui A (2022), en su investigación tuvieron como objetivo evaluar la capacidad antibacteriana de la pulpa de cocona contra bacterias grampositivas mediante la técnica de Kirby Bauer y además realizaron el tamizaje fitoquímico, en su estudio experimental y transversal identificaron como principales metabolitos secundarios a los taninos, alcaloides, etc. Mientras que en el análisis microbiológico los halos de inhibición fueron mayores para *Streptococcus pyogenes*, concluyendo que la pulpa de la cocona inhibió el crecimiento de esta bacteria.²²

Robles P y Espinoza G (2021), en su tesis plantearon como objetivo determinar la actividad antibacteriana del epicarpio de cocona frente a *Staphylococcus aureus* y *Salmonella enteritidis*, en su estudio aplicaron la técnica de difusión en agar y el extracto etanólico lo realizaron por maceración durante 10 días, como resultado principal hallaron que las concentraciones del extracto al 50 y 75 % mostraron halos de inhibición significativos frente a ambas bacterias, concluyendo que dicho extracto de cascara de cocona si presenta el efecto deseado.²³

Navarro R y Baltazar K (2022), en su investigación tuvieron como objetivo analizar el efecto antibacteriano de las hojas de *Solanum aphyodendron* S. Knapp (olmish), frente a bacterias enteropatógenas, la técnica de extracción fue maceración y extracto se llevó a concentraciones del 25, 50 y 90 %, mientras que para la

evaluación microbiológica se utilizó la técnica de Kirby Bauer, como resultados obtuvieron que *Shigella sonnei* presento sensibilidad ante las tres concentraciones elaboradas en comparación que las otras bacterias, concluyendo que el extracto de hojas presento efecto antibacteriano.²⁴

Gamboa L (2020), en su estudio tuvo como objetivo determinar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Solanum tuberosum* (chuño negro) frente a *Streptococcus mutans* mediante la técnica de difusión en pozos y el extracto se llevó a las concentraciones de 25, 50 y 75 %, como resultados halló que la concentración el 75 % fue muy sensible contra la cepa empleada, concluyendo que el extracto de *S. tuberosum* a su concentración más alta tuvo el efecto esperado.²⁵

Coaquira S y Quispe R (2020), en su investigación tuvieron como objetivo principal comparar el efecto antibacteriano de tres marcas de tocosh frente a *Staphylococcus aureus*, para ello se prepararon concentraciones de 12, 5; 25; 50; 60; 70; 80; 90 y 100 % del extracto elaborado, como resultados hallaron que el extracto de la marca 1 fue muy optimo a las concentraciones de 80; 90 y 100 %, mientras que para la marca 2 la concentración al 100 % fue la mejor, de igual manera para la marca 3, concluyendo que la marca 1 es más eficaz que las otras marcas utilizadas.²⁶

Como antecedentes internacionales tenemos:

Dalenogare J, et al. (2022), en su estudio evaluaron las características fitoquímicas, así como sus propiedades farmacológicas y toxicidad del fruto de *Solanum sessiliflorum*, en cuanto a su actividad antibacteriana se utilizaron cepas de *Aeromonas caviae*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Sphingomonas paucimobilis*, como resultados principales hallaron que los compuestos fenólicos fue el principal metabolito secundario identificado y que las tres cepas bacterianas fueron sensibles frente al extracto etanólico, concluyendo que la cocona presenta propiedades antibacterianas.²⁷

Ramon J y Galeano P (2020), en su estudio tuvieron como objetivo evaluar las actividades antioxidante y antibacteriana de diez especies del género *Solanum* incluida la cocona, para ello se elaboró el extracto metanólico de las hojas de cada especie en estudio y se sometieron frente a *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, como resultados en cuanto a la propiedades

antibacterianas hallaron que el extracto metanólico de la cocona no inhibió el crecimiento de las bacterias empleadas, concluyendo que esta especie vegetal no presento un efecto antibacteriano superior a comparación de los otros ejemplares.²⁸

Arage M, et al. (2022), en su investigación tuvieron como objetivo analizar la capacidad antibacteriana del extracto metanólico del fruto de *Solanum anguivi*, para ello se realizó la técnica de maceración en frio, el extracto elaborado se llevó a una concentración del 80 % y se evaluó frente a cinco diferentes bacterias, como resultados obtuvieron el extracto en estudio fue muy eficaz principalmente contra las cepas de *Salmonella enterica* serovar Typhimurium, concluyendo que el fruto de dicha especie vegetal presento propiedades antibacterianas.²⁹

Waithaka P, et al. (2019), tuvieron como objetivo principal evaluar la actividad antibacteriana del extracto de la raíz de *Solanum incanum* frente a bacterias patógenas del agua, los extractos se elaboraron con diferentes solventes tales como etanol, metanol y agua, como resultado principal se halló que no existe diferencia estadísticamente significativa entre los halos de inhibición por cada patógeno utilizado ($p=0,07$), concluyendo que esta especie vegetal presenta una adecuada actividad antibacteriana.³⁰

Tegegne M, et al. (2021), en su estudio tuvieron como objetivo evaluar la capacidad antibacteriana de los extractos del fruto de *Solanum anguivi* además de realizar el tamizaje fitoquímico cualitativo, en cuanto a la metodología antibacteriana utilizaron la técnica de difusión en pozos de agar, como resultados para la prueba fitoquímica identificaron la presencia de alcaloides y compuestos fenólicos principalmente y por otro lado se hallaron halos de inhibición entre 12,5 a 16,75 mm para bacterias grampositivas y gramnegativas, concluyendo que el fruto de la especie vegetal en estudio si presento actividad antibacteriana.³¹

La justificación teórica del proyecto de tesis será aportar conocimiento etnofarmacológico de *Solanum sessiliflorum* Dunal (cocona) pero resaltando los beneficios terapéuticos del fruto, ya que hasta el momento no se ha hallado la suficiente información acerca de sus propiedades farmacológicas, así como estudios que las analicen y evalúen. Al ser un fruto no muy conocido a nivel nacional se corre el riesgo de perder su material genético³² a causa de la deforestación y la

falta de conocimiento de los habitantes de otras regiones del país, por otro lado, al ser un fruto al cual la población tiene fácil acceso, este podría contar como una alternativa terapéutica para el tratamiento de infecciones bacterianas. De manera practica se pretende incentivar a otros estudiantes de la carrera de farmacia y bioquímica en la investigación de este producto natural, el cual podría ser fuente de una nueva gama de moléculas con capacidad antibacteriana lo que permitiría más adelante sintetizar un nuevo grupo de medicamentos antibióticos y finalmente las técnicas que se emplearan en el desarrollo del siguiente proyecto, han validadas y empleadas en otros estudios previos lo que demuestra que los resultados son confiables y seguros.

El objetivo general del presente estudio fue determinar la actividad antibacteriana in vitro del extracto etanólico del mesocarpio de *Solanum sessiliflorum* Dunal (Cocona) frente a *Proteus mirabilis* ATCC 29906

La hipótesis general del estudio es la siguiente:

El extracto etanólico del mesocarpio de *Solanum sessiliflorum* Dunal (Cocona) presenta actividad antibacteriana in vitro frente a *Proteus mirabilis* ATCC 29906

Las hipótesis secundarias serán las siguientes:

II. MATERIALES Y MÉTODOS

II.1. Enfoque y diseño de la investigación

Enfoque: Cuantitativo, debido a que se realizaron mediciones con las cuales se pueden obtener tendencias, plantear nuevas hipótesis y así construir teorías.³³

Diseño: Experimental, porque se manipularon las variables establecidas para verificar su relación.³³

Explicativo: Porque nos permitió hallar la causalidad de los eventos analizados.³⁴

Transversal: Porque la recolección de los datos se realizó durante un tiempo preciso.³⁴

II.2. Población, muestra y muestreo

La población vegetal estuvo conformada por 10 kilos de frutos de cocona, los cuales se recolectaron en la ciudad de Pucallpa, departamento de Ucayali, con una altitud a 154 m.s.n.m. y su localización sobre el punto geográfico: Latitud sur 8°23' 11" S y Longitud Oeste 74°31' 43 W

Por otro lado, la población biológica estuvo conformada por *Proteus mirabilis* ATCC 29906.

La muestra vegetal fue de 6 kg de mesocarpio o pulpa de los frutos de *Solanum sessiliflorum* Dunal (cocona).

Criterios de inclusión:

- Frutos con buena apariencia
- Frutos maduros

Criterios de exclusión:

- Frutos que presenten contaminación microbiana
- Frutos que se encuentren en estado de descomposición

- Frutos con señales de golpes o abolladuras
- Frutos con presencia de insectos

El muestreo será no probabilístico.

II.3. Variables de investigación

Variable Independiente: Extracto etanólico del mesocarpio de *Solanum sessiliflorum* Dunal (Cocona)

Definición conceptual: Fracción líquida obtenida por maceración etanólica, extraído del mesocarpio de *Solanum sessiliflorum* Dunal (Cocona)³⁵.

Definición operacional: Concentración del extracto etanólico del mesocarpio de *Solanum sessiliflorum* Dunal (Cocona)

Variable dependiente: Efecto antibacteriano in vitro frente a *Proteus mirabilis* ATCC 29906

Definición conceptual: Es la capacidad de una determinada sustancia química para inhibir el crecimiento o provocar lisis en la célula procariota³⁶.

Definición operacional: Sensibilidad bacteriana frente al extracto etanólico del mesocarpio de *Solanum sessiliflorum* Dunal (Cocona) obtenida por medición del diámetro de los halos de inhibición.

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

La técnica que se utilizó fue la observación debido a que se prestó atención al fenómeno que se produjo y además se tomó nota de todos los hechos durante la investigación.³⁷

El instrumento que se usó fue la ficha de recolección de datos, para ello se diseñó uno para cada procedimiento realizado (fitoquímico y microbiológico).³⁷

II.5. Plan metodológico para la recolección de datos

II.5.1. Recolección y reconocimiento de la muestra vegetal:

La recolección de los frutos de *Solanum sessiliflorum* (cocona) se llevó a cabo en la ciudad de Pucallpa, departamento de Ucayali, luego estos se almacenaron en un recipiente de tecnopor durante su traslado a Lima, en donde se realizó el reconocimiento botánico de la especie vegetal por un especialista en identificación taxonómica.

II.5.2. Preparación de la muestra vegetal

La preparación de la muestra vegetal se llevó a cabo en el laboratorio Santa Rosa, el primer paso consistió en seleccionar los frutos de acuerdo a los criterios de inclusión y exclusión previamente descritos, una vez realizada esta labor se procedió a lavarlos con agua potable a chorro para retirar las impurezas y luego se procedió a desinfectarlas con solución de hipoclorito 10 ppm durante 15 minutos, luego se enjuagaron con agua destilada y se sometieron al ambiente. El siguiente paso fue retirar la cascará de los frutos utilizando un cuchillo de acero inoxidable y la pulpa se cortó en pedazos para ser llevados a la estufa a 40°C por 48 horas con la finalidad de completar el proceso de deshidratación. Al finalizar el tiempo establecido los trozos de frutos secos se pulverizaron en un mortero con ayuda de un pilón y se almacenaron en un frasco de vidrio color ámbar.²²

II.5.3. Preparación del extracto

La preparación del extracto se llevó a cabo utilizando la técnica de maceración para lo cual se utilizó como solvente al etanol de 70 a una cantidad de 500 mL, luego se procedió a macerar por 7 días en un lugar oscuro y libre de humedad con agitación dinámica cada 24 horas.²²

Al finalizar el proceso de maceración se procedió a filtrar el extracto etanólico empleando papel filtro Whatman N° 1, el producto obtenido se almacenó en placa Petri y se llevó a la estufa a 40°C por 48 horas para obtener el extracto crudo.²²

II.5.4. Porcentaje de rendimiento

Para hallar el porcentaje de rendimiento se utilizó la siguiente fórmula.³⁸

$$\%E = \frac{Pf}{Pi} \times 100$$

Donde:

- %E = Porcentaje de rendimiento
- Pf = Peso final (Extracto seco obtenido)
- Pi = Peso inicial (Muestra molida)

II.5.5. Prueba de solubilidad

Se utilizó 0.5 g del extracto crudo y 2 mL de los siguientes solventes Éter de petróleo, diclorometano, cloroformo, butanol, etanol, metanol y agua destilada.²³

II.5.6. Marcha fitoquímica del extracto

En el tamizaje fitoquímico se utilizó 0,5 g de extracto crudo en los 14 tubos de ensayos según la metodología de Olga Lock, para ello se realizaron las siguientes pruebas: Prueba de Baljet (Lactonas α , β insaturadas), prueba de Dragendorff, Wagner y Mayer (alcaloides), prueba de Gelatina-sal y Gelatina (taninos), prueba de NaOH 10 % (antocianinas), prueba de Cloruro férrico (compuestos fenólicos), Prueba de Shinoda (flavonoides), prueba de Liebermann-Burchard (triterpenos y esteroides), prueba de Índice Afro simétrico (saponinas) y prueba de Borntrager (quinonas).³⁹

II.5.7. Análisis Microbiológico

Como primer paso se elaboró el estándar al 0,5 de McFarland, para lo cual se preparó una solución de cloruro de bario 0,048 M, utilizando 0,499 g de dicha sal y disolviéndola en una fiola de 50 mL con agua destilada. Por otro lado, se preparó una solución de ácido sulfúrico 0,18 M con 1,01 mL de dicha sustancia concentrada en una fiola de 100 mL. Finalmente, para obtener el estándar se disolvió 0,5 y 95, 5 mL de cloruro de bario 0,048 M y ácido sulfúrico 0,18 M respectivamente⁴⁰.

La activación de la cepa de *Proteus mirabilis* ATCC 29906 se realizó siguiendo las instrucciones del fabricante, para ello se utilizó el Kiwik-stik del producto, una vez

realizada esta operación con ayuda de un hisopo estéril se tomó una muestra de la solución y colocó en un tubo con 5 mL de caldo soya tripticasa.⁴¹

Luego de la activación de la cepa se realizó una suspensión directa la cual se ajustó comparándola de manera visual con el estándar de McFarland previamente realizado. Al finalizar este proceso las cepas se sembraron en agar Mueller Hinton mediante la técnica de estrías y girando la placa a 60°. ²²

Los pozos se prepararon usando un material de acero estéril, el cual se añadió 30 uL de las concentraciones preparadas de los extractos, estos se distribuyeron de la siguiente manera:

1. Pozos con extracto del mesocarpio de *Solanum sessiliflorum* al 25 %.
2. Pozos con extracto del mesocarpio de *Solanum sessiliflorum* al 50 %.
3. Pozos con extracto del mesocarpio de *Solanum sessiliflorum* al 75 %.
4. Control positivo: ciprofloxacino 5 µg
5. Control negativo: etanol 70°

Finalmente, las placas se colocaron en la estufa a 37°C de 24 a 48 horas, luego de este tiempo se midieron los halos de inhibición con un vernier.²²

II.6. Procesamiento del análisis estadístico

Los datos obtenidos del ensayo microbiológico fueron cargados en una base de datos en una hoja de cálculo del programa Microsoft Excel y por otro lado se emplearon técnicas de estadística descriptiva inferencial las cuales se realizaron en el programa Statistical Package for Social Sciences – SPSS versión 27.

II.7. Aspectos éticos

El desarrollo de la investigación se realizó llevando a cabo la adecuada manipulación de la cepa bacteriana, así como de los equipos e instrumentos de laboratorios necesarios, por otro lado, también se evitaron contaminar el medio ambiente realizando el adecuado desecho de los productos biológicos.

III. RESULTADOS

III.1. Prueba de Solubilidad

Tabla 1. Ensayo de solubilidad

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

-: Insoluble; +: Poco soluble; ++: Medianamente soluble; +++: Muy soluble

El extracto etanólico del mesocarpio Cocona fue muy soluble en Etanol 70, medianamente soluble en agua destilada y poco soluble en Metanol.

III.2. Tamizaje fitoquímico

Tabla 2. Tamizaje fitoquímico

TUBO	ENSAYOS	METABOLITO	RESULTADO
N° 1	Borntrager	Antraquinonas	+
N° 2	Cloruro férrico	Compuestos fenólicos	++
N° 3	Liebermann-Burchard	Terpenos y esteroides	+
N° 4	Dragendorff	Alcaloides	+
N° 5	Mayer	Alcaloides	-
N° 6	Wagner	Alcaloides	+
N° 7	Baljet	Lactonas α , β -insaturadas	+++
N° 8	Gelatina	Taninos	-
N° 9	Gelatina-sal	Taninos	-
N° 10	NaOH 10%	Antocianinas	++
N° 11	Espuma	Saponinas	++
N° 12	Shinoda	Flavonoides	+

(-): Ausencia; (+): Mínima; (++) : Mediana (+++): Abundante presencia

La tabla 2 muestra que los principales metabolitos secundarios identificados fueron lactonas α , β -insaturadas; compuestos fenólicos, antocianinas, saponinas, principalmente.

III.3. Ensayo microbiológico

Tabla 3. Halos de inhibición de ensayo microbiológico *Proteus mirabilis* ATCC 29906

Microorganismo	Diámetros de inhibición en mm				
	75%	50%	25%	Ciprofloxacino 5ug	Etanol 70 °
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 29906	15.88	13.08	10.05	29.99	6
	15.86	13.05	10.07	29.97	6
	15.90	13.10	10.10	30.04	6
	15.88	13.07	10.04	29.98	6
	15.89	13.09	10.09	30.03	6
	15.86	13.04	10.06	29.95	6
	15.89	13.08	10.08	29.99	6
	15.91	13.12	10.09	30.01	6
	15.88	13.05	10.05	29.96	6
	15.90	13.09	10.08	30.00	6
Media	15.89	13.08	10.07	29.99	6

*Tamaño de pozos: 6mm, al reportarse 6mm no existe formación halo de inhibición

*Concentración del inóculo: 1.5×10^8 UFC/mL

La tabla 3 detalla que el grupo del control positivo tuvo una media de 29,99 mm, mientras que el extracto al 75 % tuvo un valor de 15, 89 mm y los extractos al 50 y 25% fueron de 13;08 y 10,07 mm, respectivamente.

Tabla 4. Estadísticos descriptivos de los resultados del ensayo microbiológico

Descriptivos		
Estadísticos		
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 29906	Media	15,0050
	Error estándar de la media	1,16853
	Mediana	13,0800
	Moda	6,00
	Desv. Desviación	8,26275
	Varianza	68,273
	Asimetría	,946
	Error estándar de asimetría	,337
	Curtosis	-,341
	Error estándar de curtosis	,662
	Rango	24,04

La tabla 4 muestra las diferentes pruebas aplicadas en la estadística descriptiva.

Tabla 5. Comparación de medias por el ANOVA

		ANOVA				
		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 29906	Entre grupos	3,345,361	4	836,340	1,949,006,477	0,00
	Dentro de grupos	0,019	45	0,000		
Total		3,345,381	49			

La tabla 5 muestra un resultado ($p < 0,05$), lo que demuestra que existe diferencia estadísticamente significativa entre los halos de inhibición de los grupos experimentales según la prueba ANOVA.

Por otro lado, se utiliza la técnica de Tukey para analizar si existen diferencias entre cada uno de los grupos experimentales mediante comparaciones múltiples.

Tabla 6. Comparaciones múltiples por la prueba de Tukey

HSD Tukey							
	(I) Grupo	(J) Grupo	Diferencia de medias (I-J)	Desv. Error	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
						Límite inferior	Límite superior
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 29906	Ciprofloxacino 5ug	Etanol 70%	23,99200*	,00926	0,000	23,9657	24,0183
		25 %	19,92100*	,00926	0,000	19,8947	19,9473
		50%	16,91500*	,00926	0,000	16,8887	16,9413
		75%	14,10700*	,00926	0,000	14,0807	14,1333
	Etanol 70%	Ciprofloxacino 5ug	-23,99200*	,00926	0,000	-24,0183	-23,9657
		25 %	-4,07100*	,00926	0,000	-4,0973	-4,0447
		50%	-7,07700*	,00926	0,000	-7,1033	-7,0507
		75%	-9,88500*	,00926	0,000	-9,9113	-9,8587

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

La tabla 6 evidenció que $p < 0.05$ en las comparaciones entre el grupo negativo (Etanol 70%) y los demás grupos experimentales. Esto indica que existió efecto antibacteriano.

Tabla 7. Cuadro comparativo de la escala de Duraffourd con los halos de inhibición del extracto etanólico del mesocarpio de *Solanum sessiliflorum* Dunal (Cocona) frente a *Proteus mirabilis* ATCC 29906

Escala de Duraffourd	Concentraciones									
	<i>Solanum sessiliflorum</i> Dunal 25%		<i>Solanum sessiliflorum</i> Dunal 50%		<i>Solanum sessiliflorum</i> Dunal 75%		Ciprofloxacino 5ug		Etanol 70 °	
	N	Media	N	Media	N	Media	N	Media	N	Media
Nula (-) < 8 mm	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	10	6.0
Sensible (+) 8 – 14 mm	10	10.07	10	13.08	0	0.0	0	0.0	0	0.0
Muy Sensible (++) 14 – 20 mm	0	0.0	0	0.0	10	15.89	0	0.0	0	0.0
Sumamente Sensible (+) > 20 mm	0	0.0	0	0.0	0	0.0	10	29.99	0	0.0

En la tabla 7 se evidenció la comparación de los resultados con la escala de Duraffourd a nivel de las medias de cada grupo en estudio el cual comprende a los experimentales y los controles, presentando sensibilidad para las concentraciones de *Solanum sessiliflorum* Dunal al 25% y 50% y de tipo muy sensible en la concentración del 75%, esto indica que las 3 concentraciones mencionadas poseen actividad antibacteriana. Por otro lado, los controles positivo y negativo cumplen con la característica necesaria el cual sirve como referencia para el presente estudio.

IV. DISCUSIÓN

IV.1. Discusión de resultados

La prueba de solubilidad, evidenció que el extracto etanólico del mesocarpio de fue muy soluble en Etanol 70%, mientras que en los solventes no polares fue insoluble, esto se entiende por los metabolitos secundarios de la cocona tienen afinidad por los solventes alcohólicos.²⁰

En cuanto al tamizaje fitoquímico los metabolitos secundarios de mayor presencia fueron solo las Lactonas α , β -insaturadas, mientras que los compuestos fenólicos, antocianinas y saponinas, tuvieron una presencia media. Estos resultados coinciden con la investigación de Espinoza y Robles (2021) quienes trabajaron con el extracto etanólico de la cáscara de cocona, mostrando resultados positivos para estos mismos metabolitos además de antraquinonas y cumarinas²³ a pesar de que se muestran resultados semejantes, los estudios tuvieron diferencias de acuerdo al uso del tipo de solvente para la maceración, el cual corresponde etanol de 96°, no obstante, estas diferencias no alteraron en la existencia de la actividad antibacteriana.

De igual importancia, también coincide con el estudio de Alvia y Olortegui (2021) quienes emplearon la misma prueba en el fruto de la cocona, hallando principalmente Alcaloides, Taninos, Antocianinas y Azúcares reductores; lo que demuestra que estos metabolitos tienen una relevante importancia en las propiedades biológicas de la cocona y que además pueden ser útiles para formulación de nuevas moléculas empleadas en la medicina.²²

Para el ensayo microbiológico in vitro se apreció que el extracto al 75% generó el mayor halo de inhibición a comparación de las demás concentraciones (25 y 50 %). Por otro lado, las pruebas estadísticas mostraron que estos tres grupos presentaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$). Mientras que para la escala de Duraffourd esta cepa en estudio fue sensible para el extracto al 25 % 50 % y muy sensible para el 75 %.

Coincide con el estudio de Navarro y Baltazar (2022) el cual determinó que *S. sessiliflorum* Dunal inhibió el crecimiento de las cepas de *Salmonella E.* y

Staphylococcus aureus y *Staphylococcus E*, siendo la concentración al 75 % el que obtuvo el valor más alto con 9.49 mm²⁴ ambos estudios guardan relación debido a que en ambos resultados el grupo control presentó actividad antibacteriana frente a la cepa bacteriana; las muestras al ser del mismo lugar ayudan a que no haya discrepancias al momento de realizar la comparación dado que tanto como el sub suelo y los distintos climas meteorológicos juegan un rol importante, así mismo coincide con el estudio de Huayhua y Garcia (2021), quienes analizaron la actividad antimicrobiana de *Solanum juzepczukki* verificaron que la cepa *Salmonella enterica* subsp. se evidenció halos de inhibición de 10,40 mm a 30 ul. del extracto⁴⁰

Por otra parte, se asemejan con el estudio de Gamboa (2021), quienes evaluaron la actividad antibacteriana del extracto etanólico de la piel de *Solanum tuberosum*, frente a *Staphylococcus aureus*, obteniendo halos de inhibición de 14,66 ± 0,47 mm y una concentración mínima inhibidora de base de 0,62 ± 0,00 mg/ml.²⁵ Así mismo Singh R, et al (2021) determinaron en un estudio similar la actividad antibacteriana de *S. tuberosum*, con un halo de inhibición de 17 mm.⁴²

Estas investigaciones apoyan el resultado obtenido, a pesar de los diferentes principios de los activos vegetales utilizados en estas investigaciones.

IV.2. Conclusiones

- El extracto etanólico del mesocarpio de *Solanum sessiliflorum* Dunal (Cocona) presenta actividad antibacteriana frente a *Proteus mirabilis* ATCC 29906.
- Los tipos de metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico del mesocarpio de *Solanum sessiliflorum* Dunal (Cocona) responsables de la actividad antibacteriana in vitro fueron Lactonas α , β -insaturadas, Compuestos fenólicos, Antocianinas y Saponinas, Antraquinonas, Terpenos y esteroides, Alcaloides y Flavonoides.
- La concentración del extracto etanólico del mesocarpio de *Solanum sessiliflorum* Dunal (Cocona) que presentó actividad antibacteriana fue del 25 %, 50 % y 75 %.
- El extracto etanólico del mesocarpio de *Solanum sessiliflorum* Dunal (Cocona) a las concentraciones del 25 %, 50% y 75 % no superaron el efecto inhibitor del Ciprofloxacino 5 μ g frente a cepas de *Proteus mirabilis* ATCC 29906.

IV.3. Recomendaciones

- Realizar nuevas investigaciones para aprobar la viabilidad de *Solanum sessiliflorum* Dunal (Cocona), como probable sustancia antibacteriana contra diferentes tipos de interés para el bienestar general.
- Iniciar investigaciones farmacológicas para aprobar el nivel de viabilidad de *S. sessiliflorum* Dunal (Cocona), frente a diversos ensayos y su compromiso con la farmacoterapia.
- Realizar comparaciones de actividad antibacteriana de *Solanum sessiliflorum* Dunal (Cocona), de diversas localidades del Perú, ya que los elementos naturales asumen un papel en la presencia y acción de metabolitos activos en las plantas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Morales S, Yepes J, Prada J, Torres A. Enterobacteria in the 21st century: A review focused on taxonomic changes. *J Infect Dev Ctries* [Internet]. 2019;13(4):265–73. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32045369/>
2. Kang E, Crouse A, Chevallier L, Pontier S, Alzahrani A, Silué N, et al. Enterobacteria and host resistance to infection. *Mamm Genome* [Internet]. 2018;29(7–8):558–76. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29785663/>
3. Armbruster C, Mobley H, Pearson M. Pathogenesis of *Proteus mirabilis* Infection. *EcoSal Plus* [Internet]. 2018;8(1):1–73. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29424333/>
4. Gong Z, Shi X, Bai F, He X, Zhang H, Li Y, et al. Characterization of a Novel Diarrheagenic Strain of *Proteus mirabilis* Associated With Food Poisoning in China. *Front Microbiol* [Internet]. 2019;10:1–11. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31921012/>
5. Ram P, Rao V, Rao S, Subramanyam K, Srinivas K. Prevalence and virulence gene profiles of *Proteus mirabilis* isolated from animal, human and water samples in Krishna District, Andhra Pradesh, India. *Pharma Innov J* [Internet]. 2019;8(6):19–23. Available from: <https://www.thepharmajournal.com/archives/?year=2019&vol=8&issue=6&ArticleId=3516>
6. Fattah S, Bahadeen A, Jamel M. Distribution of blaTEM , blaSHV , blaCTX-M , blaOXA , and blaDHA in *Proteus mirabilis* Isolated from Diabetic Foot Infections in Erbil, Iraq Samira. *Cell Mol Biol* [Internet]. 2020;66(1):88–94. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32359390/#:~:text=The results revealed that all,whereas no isolates harbored blaSHV.>
7. Nakano R, Nakano A, Abe M, Nagano N, Asahara M, Furukawa T, et al. Prevalence and mechanism of fluoroquinolone resistance in clinical isolates of *Proteus mirabilis* in Japan. *Heliyon* [Internet]. 2019;5(3):1–12. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6403068/>
8. Lombes A, Bonnin R, Laurent F, Guet H, Bille E, Cattoir V, et al. High Prevalence of OXA-23 Carbapenemase-Producing *Proteus mirabilis* among

- Amoxicillin-Clavulanate-Resistant Isolates in France. *Antimicrob Agents Chemother* [Internet]. 2022;66(2):1–5. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34930033/#:~:text=In this multicentric study performed,produced the OXA-23 carbapenemase.>
9. Nwachukwu E, Onyebuchi M. Prevalence of urinary tract infections in pregnant women in Onitsha, Nigeria. *J Bacteriol Mycol Open Access* [Internet]. 2018;6(5):284–5. Available from: [https://medcraveonline.com/JBMOA/prevalence-of-urinary-tract-infections-in-pregnant-women-in-onitsha-nigeria.html#:~:text=Conclusion-,The prevalence of urinary tract infections,is very high \(56%25\).](https://medcraveonline.com/JBMOA/prevalence-of-urinary-tract-infections-in-pregnant-women-in-onitsha-nigeria.html#:~:text=Conclusion-,The prevalence of urinary tract infections,is very high (56%25).)
 10. Tamma P, Smith T, Adebayo A, Karaba S, Jacobs E, Wakefield T, et al. Prevalence of blaCTX-M genes in gram-negative bloodstream isolates across 66 hospitals in the United States. *J Clin Microbiol* [Internet]. 2021;59(6):1–8. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8316135/>
 11. Miranda J, Pinto J, Faustino D, Sánchez B, Ramirez F. Antimicrobial resistance of uropathogens in older adults in a private clinic in Lima, Peru. *Rev Peru Med Exp Salud Publica* [Internet]. 2019;36(1):87–92. Available from: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46342019000100013
 12. Ramirez B. Prevalencia y resistencia antibiotica de uropatógenos en mujeres atendidas en el hospital III Iquitos ESALUD de enero a marzo 2020 [Internet]. Universidad Científica del Peru; 2021. Available from: <http://repositorio.ucp.edu.pe/handle/UCP/1355>
 13. Wasfi R, Hamed S, Amer M, Fahmy L. *Proteus mirabilis* Biofilm: Development and Therapeutic Strategies. *Front Cell Infect Microbiol* [Internet]. 2020;10(414):1–14. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fcimb.2020.00414/full>
 14. Gomaa S, Serry F, Abdellatif H, Abbas H. Elimination of multidrug-resistant *Proteus mirabilis* biofilms using bacteriophages. *Arch Virol* [Internet]. 2019;164(9):2265–75. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00705-019-04305-x>
 15. Li Z, Peng C, Zhang G, Shen Y, Zhang Y, Liu C, et al. Prevalence and characteristics of multidrug-resistant *Proteus mirabilis* from broiler farms in Shandong Province, China. *Poult Sci* [Internet]. 2022;101(4):1–7. Available

- from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0032579122000153>
16. Organización Mundial de la Salud (OMS). Resistencia a los antimicrobianos [Internet]. 2020. Available from: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>
 17. Yañez S. Prevalencia de patógenos bacterianos y patrones de sensibilidad a los antibacterianos en población con infección del tracto urinario, del hospital Daniel Alcides Carrion-ESSALUD, Tacna-2020 [Internet]. Universidad Privada de Tacna; 2021. Available from: <https://repositorio.upt.edu.pe/handle/20.500.12969/1986>
 18. Yuan F, Huang Z, Yang T, Wang G, Li P, Yang B, et al. Pathogenesis of *Proteus mirabilis* in Catheter-Associated Urinary Tract Infections. *Urol Int* [Internet]. 2021;105(5–6):354–61. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33691318/>
 19. Murray P, Rosenthal K, Pfaller M. *Microbiologia Medica*. 8va ed. Barcelona: Elsevier; 2017. 834 p.
 20. Quispe R, Paredes Y, Roque J. Antioxidant capacity and proximal analysis of *Solanum sessiliflorum* Dunal and *Chenopodium quinoa* Willdenow nectar-based. *Agron Mesoamerican* [Internet]. 2022;33(2):1–11. Available from: https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?pid=S1659-13212022000200017&script=sci_abstract
 21. Dalenogare J, De Souza M, Dos Santos G, Duarte T, Medeiros M, Camponogara C, et al. Toxicity, Anti-Inflammatory, and Antioxidant Activities of Cubiu (*Solanum sessiliflorum*) and Its Interaction with Magnetic Field in the Skin Wound Healing. *Evid Based Complement Altern Med* [Internet]. 2022; Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35310021/>
 22. Alvia C, Olortegui A. Efecto antibacteriano in vitro del extracto hidroalcohólico del fruto de *Solanum sessiliflorum* (cocona) frente a cepas de *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pyogenes* [Internet]. Universidad Maria Auxiliadora; 2022. Available from: <https://repositorio.uma.edu.pe/handle/20.500.12970/786>
 23. Robles P, Espinoza G. Efecto antibacteriano IN VITRO del extracto etanólico de la cáscara de *solanum sessiliflorum* dunal (cocona) frente a las cepas de *salmonella enteritidis* y *staphylococcus aureus* [Internet]. Universidad Maria Auxiliadora; 2021. Available from:

- <https://repositorio.uma.edu.pe/handle/20.500.12970/644>
24. Navarro R, Baltazar K. Efecto antibacteriano in vitro del extracto hidroalcoholico de las hojas de *Solanum aphyodendron* S. KNAPP (Olmish) sobre bacterias gramnegativas [Internet]. Universidad Maria Auxiliadora; 2022. Available from: <https://repositorio.uma.edu.pe/handle/20.500.12970/1040>
 25. Gamboa L. Efecto antibacteriano del Extracto etanólico de *Solanum tuberosum* (chuño negro) frente a *Streptococcus mutans*, 2019 [Internet]. Universidad Nacional de Trujillo; 2020. Available from: [https://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/16090#:~:text=Finalmente%2Cse concluye que el,de cepas de *Streptococcus mutans*.](https://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/16090#:~:text=Finalmente%2Cse%20concluye%20que%20el%20de%20cepas%20de%20Streptococcus%20mutans.)
 26. Coaquira S, Quispe R. Estudio comparativo del efecto antibacteriano de tres marcas del tocosh (*Solanum tuberosum*) frente a *staphylococcus aureus* ATCC 25923 Arequipa-2019 [Internet]. Universidad Privada Autonoma del Sur; 2020. Available from: <http://repositorio.upads.edu.pe/handle/UPADS/81>
 27. Dalenogare J, Somacal S, Machado V, Montagner G, Verdi C, Duarte M, et al. Phytochemical Characterization, Pharmacological Properties And Toxicity of Amazonian Fruit Cubiu (*Solanum Sessili?orum* Dunal). *Res Sq* [Internet]. 2021;1–23. Available from: https://www.researchgate.net/publication/353984552_Phytochemical_Characterization_Pharmacological_Properties_And_Toxicity_of_Amazonian_Fruit_Cubiu_Solanum_Sessiliflorum_Dunal
 28. Ramón J, Galeano P. Actividad antioxidante y antimicrobiana de extractos metanólicos de hojas de plantas del género *Solanum*. *Inf tecnológica* [Internet]. 2020;31(5):33–42. Available from: https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718-07642020000500033
 29. Arage M, Eguale T, Giday M. Evaluation of Antibacterial Activity and Acute Toxicity of Methanol Extracts of *Artemisia absinthium*, *Datura stramonium*, and *Solanum anguivi*. *Infect Drug Resist* [Internet]. 2022;15:1267–76. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35355620/>
 30. Waithaka P, Githaiga B, Gathuru E, Dixon M. Antibacterial effect of *Solanum incanum* root extracts on bacteria pathogens isolated from portable water in Egerton University, Kenya. *J Biomed Sci* [Internet]. 2019;6(2):19–24.

Available from: <https://www.nepjol.info/index.php/JBS/article/view/26813>

31. Tegegne M, Abiyu E, Libesu S, Bedemo B, Lewoyehu M. Phytochemical investigation, antioxidant and antibacterial activities of the fruit extracts of *Solanum anguivi*. *Biotechnol Biotechnol Equip* [Internet]. 2021;35(1):1480–91. Available from: <https://www.tandfonline.com/doi/pdf/10.1080/13102818.2021.1993087>
32. Obregón A, Elías C, Contreras E, Arias G, Bracamonte M. Características fisicoquímicas, nutricionales y morfológicas de frutas nativas. *Rev Investig Altoandinas - J High Andean Res* [Internet]. 2021;23(1):17–25. Available from: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S2313-29572021000100017&script=sci_arttext
33. Arispe C, Yangali J, Guerrero M, Lozada O, Acuña L, Arellano C. *La Investigación Científica*. 1 ed. Universidad Internacional del Ecuador; 2020. 128 p.
34. Hernandez R, Mendoza C. *Metodología de la investigación: las rutas cuantitativa, cualitativa y mixta*. 1st ed. Mexico: Mc Graw Hill; 2018. 751 p.
35. Pauer D, Park S, Roca M, Salazar A. Diferencias en la presencia de alcaloides y fenoles de cinco muestras de muña de expendio informal procedentes de mercados populares en Lima - Perú. *Horiz méd*. 2018;18(3):25–9.
36. Montenegro A, Ramos D. Actividad antibacteriana de *Caesalpinia spinosa* (tara) sobre *Porphyromonas gingivalis*. *Odontol Sanmarquina*. 2016;19(1):7–11.
37. Gallardo E. *Metodología de la Investigación*. 1 ed. Huancayo: Universidad Continental; 2017. 96 p.
38. Valenzuela C, Gongora N, Dueñas M, Velazquez L, Ramos A, Valenzuela N. Efecto de los extractos secos clorofórmico y de diclorometano de *Tropaeolum tuberosum* (Ruiz & Pavón) mashua sobre los parámetros seminales y toxicidad aguda. *Rev Colomb Cienc Quím Farm* [Internet]. 2019;48(1):94–111. Available from: <http://dx.doi.org/10.15446/rcciquifa.v48n1.80068>
39. Lock de Ugaz O. *Investigación fitoquímica: Métodos de estudios de productos naturales*. 3 ed. Lima: Pontificia Universidad Católica del Perú; 2016.
40. Huayhua HJ, García RA. Efecto antimicrobiano de la tunta (*Solanum juzepczukii*) sobre la *Salmonella enterica* subespecie *enterica* serovar

- Typhimurium. Rev Investig Altoandinas - J High Andean Res. 2021;23(1):37–46.
41. Andrade W. Composición de los aceites esenciales de las hojas de *Conyza bonariensis*, *Gnaphalium pellitum* y *Achyrocline satureioides*, por Cg-Em y evaluación de la actividad antibacteriana y antioxidante [Internet]. Pontificia Universidad Javeriana; 2015. Available from: <https://repository.javeriana.edu.co/handle/10554/20619>
 42. Singh R, Gupta M, Singhal P, Goyal S, Upadhyay S. In vitro antimicrobial activities of vegetables (Potato , Cucumber , Sweet Potato and Ginger) peel wastes for ecofriendly microbial management. Int J Bot Stud. 2021;6(4):134–7.

ANEXOS

ANEXO A: Instrumentos de recolección de datos

Tabla A: Ensayo microbiológico

N°	Frente a <i>Proteus mirabilis</i> ATCC 29906				
	Control negativo	Control positivo	Ext 25 %	Ext 50 %	Ext 75 %
1					
2					
3					
4					
5					
6					
7					
8					
9					
10					

Tabla B: Marcha fitoquímica del extracto etanólico

Metabolitos secundarios	Reactivos	Resultado
Quinonas	Borntrager	
Compuestos fenólicos	FeCl ₃	
Flavonoides	Shinoda	
Antocianinas	NaOH 10%	
Taninos	Gelatina	
Taninos	Gelatina Sal	
Alcaloides	Dragendorff	
Alcaloides	Wagner	
Alcaloides	Mayer	
Triterpenos y Esteroides	Liebermann Burchard	
Lactonas α , β insaturadas	Baljet	
Saponinas	Espuma	

Leyenda:

(-) Ausente

(+) Escaso

(++) Leve

(+++) Moderado

(+++++) Abundante

ANEXO B: Matriz de consistencia

“Efecto antibacteriano *in vitro* del extracto etanólico del Mesocarpio de *Solanum sessiliflorum* Dunal (Cocona) frente a *Proteus mirabilis* ATCC 29906”

Formulación del problema	Objetivos	Hipótesis	Operacionalización de las Variables		
			V1.	Dimensión	Indicadores
Problema General	Objetivo General	Hipótesis General	Extracto etanólico del mesocarpio de <i>Solanum sessiliflorum</i> Dunal (Cocona)	Fitoquímica	Marcha fitoquímica
¿Cuál es la actividad antibacteriana <i>in vitro</i> del extracto etanólico del mesocarpio de <i>Solanum sessiliflorum</i> Dunal (Cocona) frente a <i>Proteus mirabilis</i> ATCC 29906?	Determinar la actividad antibacteriana <i>in vitro</i> del extracto etanólico del mesocarpio de <i>Solanum sessiliflorum</i> Dunal (Cocona) frente a <i>Proteus mirabilis</i> ATCC 29906	El extracto etanólico del mesocarpio de <i>Solanum sessiliflorum</i> Dunal (Cocona) presenta actividad antibacteriana <i>in vitro</i> frente a <i>Proteus mirabilis</i> ATCC 29906			
Problemas Específicos	Objetivos Específicos	Hipótesis Específicas			
¿Qué tipo de metabolitos secundarios responsables de la actividad antibacteriana <i>in vitro</i> poseerá el extracto etanólico del mesocarpio de <i>Solanum sessiliflorum</i> Dunal (Cocona)?	Identificar los tipos de metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico del mesocarpio de <i>Solanum sessiliflorum</i> Dunal (Cocona) responsables de la actividad antibacteriana <i>in vitro</i>	El extracto etanólico del mesocarpio de <i>Solanum sessiliflorum</i> Dunal (Cocona) posee metabolitos secundarios responsables de actividad antibacteriana <i>in vitro</i> .	V2.	Dimensión	Indicadores
¿A qué concentración el extracto etanólico del mesocarpio de <i>Solanum sessiliflorum</i> Dunal (Cocona) presentará actividad antibacteriana <i>in vitro</i> frente a <i>Proteus mirabilis</i> ATCC 29906?	Determinar a qué concentración el extracto etanólico del mesocarpio de <i>Solanum sessiliflorum</i> Dunal (Cocona) presentará actividad antibacteriana <i>in vitro</i> frente a <i>Proteus mirabilis</i> ATCC 29906	El extracto etanólico del mesocarpio de <i>Solanum sessiliflorum</i> Dunal (Cocona) posee actividad antibacteriana <i>in vitro</i> a mayor concentración frente a <i>Proteus mirabilis</i> ATCC 29906	Efecto antibacteriano <i>in vitro</i> frente a <i>Proteus mirabilis</i> ATCC 29906	Microbiológico (Método de difusión en agar)	Medición de diámetro inhibición (mm)
¿Cuál es la actividad antibacteriana <i>in vitro</i> del extracto etanólico del mesocarpio de <i>Solanum sessiliflorum</i> Dunal (Cocona) comparado con ciprofloxacino 5 µg frente a <i>Proteus mirabilis</i> ATCC 29906?	Comparar la actividad antibacteriana <i>in vitro</i> del extracto etanólico del mesocarpio de <i>Solanum sessiliflorum</i> Dunal (Cocona) con ciprofloxacino 5 µg frente a <i>Proteus mirabilis</i> ATCC 29906	La actividad antibacteriana del extracto etanólico del mesocarpio de <i>Solanum sessiliflorum</i> Dunal (Cocona) es significativamente mayor comparado con ciprofloxacino 5 µg frente a <i>Proteus mirabilis</i> ATCC 29906			

Anexo C. Operacionalización de las variables

VARIABLES	DIMENSIONES	INDICADORES	ESCALA DE MEDICIÓN	Nº DE ÍTEMS	VALOR
VARIABLE INDEPENDIENTE Extracto etanólico del mesocarpio de <i>Solanum sessiliflorum</i> Dunal (Cocona)	Fitoquímica	Marcha fitoquímica	Ordinal	13	(-) Ausente (+) Leve (++) Moderado (+++) Abundante
VARIABLE DEPENDIENTE Efecto antibacteriano in vitro frente a <i>Proteus mirabilis</i> ATCC 29906	Microbiológico (Método de difusión en agar)	Medición de diámetro inhibición (mm)	Razón	10	<8 mm: nulo (-) 8 – 14 mm: Sensible (+) 14 – 20 mm: Muy sensible (++) >20 mm: Sumamente sensible (+++)

ANEXO D. Certificado Taxonómico



CERTIFICACION DE IDENTIFICACION BOTANICA

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

CERTIFICA:

Que, los bachilleres RAMOS LÁZARO ANDRES y RIVERA GUERRERO MAYELY LIZETH. Tesistas de la Universidad María Auxiliadora. Facultad de Ciencias de la Salud. Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica. Con fines de investigación para desarrollar el proyecto de tesis titulado: "EFECTO ANTIBACTERIANO in vitro DEL EXTRACTO ETANÓLICO DEL MESOCARPIO DE *Solanum sessiliflorum* Dunal (COCONA) FRENTE A *Proteus mirabilis* ATCC 29906". Han solicitado la identificación y certificación botánica de una planta procedente de Pucallpa, departamento de Ucayali, donde es conocida con el nombre vulgar de "cocona"; la muestra ha sido identificada como *Solanum sessiliflorum* Dunal. Según la base de W³Tropicos del Missouri Botanical Garden que sigue el sistema moderno de clasificación de las angiospermas (APG), la especie identificada se ubican en las siguientes categorías taxonómicas y clados:

Reino: Plantae
División: Angiospermae
Clase: Equisetopsida
Subclase: Magnoliidae
Superorden: Asteranae
Orden: Solanales
Familia: Solanaceae
Género: Solanum
Especie: *Solanum sessiliflorum* Dunal

Nombre vulgar: "cocona"

Se expide la presente certificación con fines de investigación científica.

Lima, 21 de octubre del 2022

José R. Campos de la Cruz
José R. Campos De la Cruz
BIOLOGO
C.B.P. 3796

Jr. Sánchez Silva 156 – Piso 2–Urb. Santa Luzmila –Lima 07 -Lima

ANEXO E. Informe de análisis de laboratorio



"Año del Fortalecimiento de la Soberanía Nacional".

Informe de Resultados

Solicitado por: RAMOS LAZARO ANDRES
RIVERA GUERRERO MAYELY LIZETH

Muestra: Extracto etanólico del mesocarpio de *Solanum sessiliflorum* Dunal
(Cocona)

Cantidad: 101.8 g

Fecha de ensayo: 12-11-2022

Microorganismo	Diámetros de inhibición en mm				
	75%	50%	25%	Ciprofloxacino Sug	Etanol 70 °
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 29906	15.88	13.08	10.05	29.99	6
	15.86	13.05	10.07	29.97	6
	15.90	13.10	10.10	30.04	6
	15.88	13.07	10.04	29.98	6
	15.89	13.09	10.09	30.03	6
	15.86	13.04	10.06	29.95	6
	15.89	13.08	10.08	29.99	6
	15.91	13.12	10.09	30.01	6
	15.88	13.05	10.05	29.96	6
	15.90	13.09	10.08	30.00	6

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

*Concentración del inóculo: 1.5×10^8 UFC/mL

Lic. T.M. Walter A. Siri Rodriguez

CTMP. 10808

ANEXO F. Certificado de Agar Mueller Hinton



Certified : ISO 9001:2015, ISO 13485:2012 , WHO GMP

HiMedia Laboratories Private Limited

23, Vadhani Industrial Estate, L.B.S. Marg,
Mumbai - 400086 , Website : www.himedialabs.com,
Email : info@himedialabs.com

Certificate of Analysis, Quality and Conformity

Material Code : M173	Material Name : Mueller Hinton Agar	Lot No : 0000357521
Report No.: 040000849057	Date of Release & Report : 2018-09-24	Expiry Date : 2023-09

Appearance

Cream to yellow homogeneous free flowing powder . Observed : Light yellow

Gelling

Firm, comparable with 1.7% agar gel.

Colour and Clarity of prepared medium

Light amber coloured clear to slight opalescent gel forms in Petri plates.

Reaction

Reaction of 3.8% w/v aqueous solution at 25°C.

pH

pH Range :7.20-7.40 Observed : 7.39

Cultural Response

Cultural characteristics observed after incubation at 30-35°C for 18 -24 hours for bacterial cultures. For testing *S.pneumoniae* : The medium was supplemented with 5% Sheep blood and incubated at 35°C for 16-18 hours at 5% CO₂ For testing *H.influenaze* : Yeast extract & 2 vials /l of Haemophilus Growth Supplement (FD117 containing 15 mg/l of Haematin + 15 mg/l of NAD) and incubated at 35°C for 20-24 hours at 5% CO₂

Antibiotic Sensitivity test

Various discs were tested for standard ATCC strains and zone of inhibition were measured after an incubation 30-35°C for 18 hours. (As per the latest CLSI Protocol M6 & Standards as per the current CLSI M100)

Thymine/Thymidine Content

The zones for these discs are indicative of the Thymine/Thymidine content of the medium.

Divalent Cation Content

* The zones for these discs are indicative of the Divalent Cation content of the medium

Organism	Inoculum (CFU)	Growth	Observed Lot value (CFU)	Recovery	Standard Zone	Zone of inhibition Observed
Escherichia coli ATCC 25922						
<i>Growth promoting</i>	85	luxuriant	72	84%	-	-
<i>Amoxyclav AMC 30 mcg</i>	-	-	-	-	18-24 mm	22mm
<i>Ampicillin AMP 10 mcg</i>	-	-	-	-	16-22 mm	21mm
<i>Cefotaxime CTX 30 mcg</i>	-	-	-	-	29-35 mm	33mm
<i>Cefoxitin CX 30 mcg</i>	-	-	-	-	23-29 mm	28mm
<i>Cephalothin CEP 30mcg</i>	-	-	-	-	15-21 mm	20mm

HiMedia Laboratories Private Limited
 23, Vadhani Industrial Estate, L.B.S. Marg,
 Mumbai - 400086 , Website : www.himedialabs.com,
 Email : info@himedialabs.com

Certificate of Analysis, Quality and Conformity

Material Code : M173	Material Name : Mueller Hinton Agar	Lot No : 0000357521
Report No.: 040000849057	Date of Release & Report : 2018-09-24	Expiry Date : 2023-09

<i>Chloramphenicol C 30 mcg</i>	-	-	-	-	21-27 mm	26mm
<i>Ciprofloxacin CIP 5mcg</i>	-	-	-	-	30-40 mm	38mm
<i>Gentamicin GEN 10 mcg</i>	-	-	-	-	19-26 mm	24mm
<i>Sulphafurazole SF 300 mcg</i>	-	-	-	-	15-23 mm	21mm
<i>Tetracycline TE 30 mcg *</i>	-	-	-	-	18-25 mm	24mm
<i>Co-Trimoxazole COT 25 mcg #</i>	-	-	-	-	23-29 mm	28mm

Staphylococcus aureus ATCC 25923

<i>Growth promoting</i>	76	luxuriant	64	84%	-	-
<i>Amoxycylav AMC 30 mcg</i>	-	-	-	-	28-36 mm	35mm
<i>Ampicillin/Sulbactam A/S 10/10 mcg</i>	-	-	-	-	29-37 mm	36mm
<i>Cephalothin CEP 30mcg</i>	-	-	-	-	29-37 mm	35mm
<i>Ciprofloxacin CIP 5mcg</i>	-	-	-	-	22-30 mm	29mm
<i>Erythromycin E 15 mcg</i>	-	-	-	-	22-30 mm	28mm
<i>Linezolid LZ 30 mcg</i>	-	-	-	-	25-32 mm	31mm
<i>Oxacillin OX 1mcg</i>	-	-	-	-	18-24 mm	23mm
<i>Pristinomycin RP 15 mcg</i>	-	-	-	-	21-28 mm	27mm
<i>Tetracycline TE 30 mcg *</i>	-	-	-	-	24-30 mm	29mm
<i>Vancomycin VA 30 mcg</i>	-	-	-	-	17-21 mm	20mm
<i>Co-Trimoxazole COT 25 mcg #</i>	-	-	-	-	24-32 mm	31mm
<i>Cefoxitin CX 30 mcg</i>	-	-	-	-	23-29 mm	27mm

Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853

<i>Growth promoting</i>	83	luxuriant	71	85%	-	-
<i>Amikacin AK 30 mcg *</i>	-	-	-	-	18-26 mm	25mm
<i>Aztreonam AT 3mcg</i>	-	-	-	-	23-29 mm	27mm
<i>Cephotaxime CTX 30 mcg</i>	-	-	-	-	18-22 mm	21mm
<i>Ceftazidime CAZ 30 mcg</i>	-	-	-	-	22-29 mm	27mm
<i>Ciprofloxacin CIP 5mcg</i>	-	-	-	-	25-33 mm	31mm
<i>Gentamicin GEN 10 mcg *</i>	-	-	-	-	16-21 mm	20mm
<i>Imipenem IPM 10 mcg</i>	-	-	-	-	20-28 mm	27mm
<i>Piperacillin PI 100 mcg</i>	-	-	-	-	25-33 mm	31mm
<i>Ticarcillin/Clavulanic acid TCC 75/10mcg</i>	-	-	-	-	20-28 mm	27mm
<i>Tobramycin TOB 10 mcg *</i>	-	-	-	-	19-25 mm	23mm

Escherichia coli ATCC 35218

HiMedia Laboratories Private Limited
 23, Vadhani Industrial Estate, L.B.S. Marg,
 Mumbai - 400086 , Website : www.himedialabs.com,
 Email : info@himedialabs.com

Certificate of Analysis, Quality and Conformity

Material Code : M173	Material Name : Mueller Hinton Agar	Lot No : 0000357521
Report No.: 040000849057	Date of Release & Report : 2018-09-24	Expiry Date : 2023-09

<i>Growth promoting</i>	75	luxuriant	63	84%	-	-
<i>Amoxyclav AMC 30 mcg</i>	-	-	-	-	17-22 mm	21mm
<i>Ampicillin AMP 10 mcg</i>	-	-	-	-	6 mm	6mm
<i>Ampicillin/Subactam A/S 10/10 mcg</i>	-	-	-	-	13-19 mm	18mm
<i>Piperacillin PI 100 mcg</i>	-	-	-	-	12-18 mm	16mm
<i>Piperacillin/Tazobactam PIT 100/10 mcg</i>	-	-	-	-	24-30 mm	29mm
<i>Ticarcillin TI 75 mcg</i>	-	-	-	-	6 mm	6mm
<i>Ticarcillin/Clavulanic acid TCC 75/10mcg</i>	-	-	-	-	21-25 mm	23mm
Enterococcus faecalis ATCC 29212						
<i>Growth promoting</i>	69	luxuriant	58	84%	-	-
<i>Co-Trimoxazole COT 25 mcg #</i>	-	-	-	-	# 20 mm (Clear zone)	23mm
<i>Trimethoprim TR 5 mcg #</i>	-	-	-	-	# 20 mm	21mm
<i>Vancomycin VA 30 mcg</i>	-	-	-	-	# 17 mm	22mm
Staphylococcus aureus ATCC 43300 (MRSA)						
<i>Growth promoting</i>	88	luxuriant	76	86%	-	-
<i>Oxacillin OX 1 mcg</i>	-	-	-	-	Very Hazy to No Zone	No zone
Streptococcus pneumoniae ATCC 49619 (On Medium with 5% Sheep Blood)						
<i>Growth promoting</i>	80	luxuriant	69	86%	-	-
Neisseria gonorrhoeae ATCC 49226 (Incubated w/5% CO2)						
<i>Growth promoting</i>	71	luxuriant	63	88%	-	-
Haemophilus influenzae ATCC 49247 (On medium w/ Y.E.,NAD & Hematin)						
<i>Growth promoting</i>	84	luxuriant	72	85%	-	-

- . ATCC is a registered trade mark of the American Type Culture Collection
- . NCTC and National Collection of Type Culture are registered trade mark of the Health Protection Agency

Control Media :

- . For Bacteria : Soyabean Casein Digest Agar / Columbia Blood Agar base enriched with 5% v/v Sheep/Horse blood.
- . For Yeast & Mold : Sabouraud Dextrose Agar.

- . All ISO 11133 : 2014(E) control strains are included in the Quality parameter
- . HiMedia Laboratories Pvt Ltd is Certified for ISO 9001:2015, ISO 13485:2012 , WHO GMP

HiMedia Laboratories Private Limited

23, Vadhani Industrial Estate, L.B.S. Marg,
Mumbai - 400086 , Website : www.himedialabs.com,
Email : info@himedialabs.com

Certificate of Analysis, Quality and Conformity

Material Code : M173	Material Name : Mueller Hinton Agar	Lot No : 0000357521
Report No.: 040000849057	Date of Release & Report : 2018-09-24	Expiry Date : 2023-09

. Information for BSE/TSE Risk: The material was subjected to pH \leq 7.0 and/or a temperature in excess of 75°C for no less than 2 hours during the manufacturing process. The bovine raw material for this product was collected entirely from Indian Origin animals in a licensed based establishment. The animals are inspected under a Govt. approved veterinarian's supervision and were apparently free from infectious and contagious diseases. BSE (Bovine Spongiform Encephalopathy)/ TSE (Transmissible Spongiform Encephalopathy) and dioxine are not known to exist in India. This material does not contain, nor is derived from the specific risks material as defined in The Maharashtra Animal Preservation Act Govt. of Maharashtra, India.

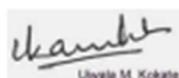
STATUS OF THE MATERIAL : APPROVED

This is to certify that this lot passes and it confirms to the above mentioned tests and specifications . The information given here is believed to be correct and accurate, however, both the information and products are offered without warranty for any particulars use, other than that specified in the current HiMedia manual or product sheets. The results reported were obtained at the time of release.

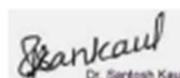
This document has been produced electronically and is valid



Microbiologist/Sr.Executive
Microbiologist



Asst./Dy/QC Manager



Dy/QA Manager

24.09.2018

ANEXO G. Certificado de análisis de Cepa *Proteus mirabilis*



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

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

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

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

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

Individual products are traceable to a recognized culture collection.



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

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



Bruker Daltonik MALDI Biotyper Classification Results



Meaning of Score Values

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

Meaning of Consistency Categories (A - C)

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

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

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

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

Comments:

n/a

ANEXO H. Evidencias fotográficas

INFORME DE PROCESAMIENTO DE MUESTRA

Muestra:

- Mesocarpio de *Solanum sessiliflorum* dunal (cocona)



1. Recepción de muestra

- Muestra : Cocona (fruto)
- Cantidad recibida : 11 151.4 g

2. Tratamiento y extracción de la droga vegetal

2.1 Tratamiento de la droga vegetal

Con el fin de adecuar la muestra para el posterior proceso de preparación del extracto hidroalcohólico, se realizaron las siguientes operaciones previas:

a. Selección y Limpieza

Se eliminó cuidadosamente la tierra que pudiera estar adherida sobre la superficie del fruto, así como aquellos que estuvieran en mal estado o con signos de contaminación microbiana o por insectos.

- Cantidad fruta seleccionada : 10834.3g
- Cantidad fruta deteriorada : 317.1 g
- Cantidad de fruta procesada: 7425.6



Selección de frutos



Frutos en mal estado

b. Lavado

- Con este proceso se eliminó todos los vestigios de tierra que pudieran haber quedado sobre el fruto aplicando un flujo continuo de agua potable, posteriormente se desinfectó con solución de hipoclorito de sodio al 10 ppm durante 15 min, por último, se enjuagó con agua destilada y se dejó a escurrir a temperatura ambiente.



Lavado con agua potable



Enjuague con hipoclorito de sodio



Enjuague con agua destilada



Escurreido a temperatura ambiente

- A continuación, se procedió a quitarle la cáscara y las semillas para poder cortar la pulpa en rodajas.



Retiro de cáscara y semilla del fruto



Trozado de pulpa de cocona

c. Secado

Este proceso consiste en eliminar gran parte del agua de la especie. Esto debido a que la presencia de agua es el principal responsable de la alteración de la muestra recolectada. Al descender la cantidad de agua, las enzimas detienen su actividad, quedan inhibidas y la muestra se conserva. Así mismo facilita el proceso de extracción.

En este caso la muestra fue distribuida sobre bandejas de pyrex y se llevó a una estufa con aire recirculante con una temperatura de 40 °C. Durante 48 horas.

- Peso obtenido luego de proceso: 322.9 g

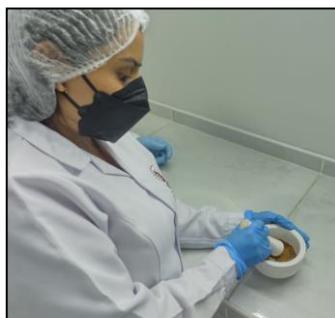


Proceso de secado a 40 °C

d. Molienda

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

- Peso obtenido luego de molienda: 322.9 g

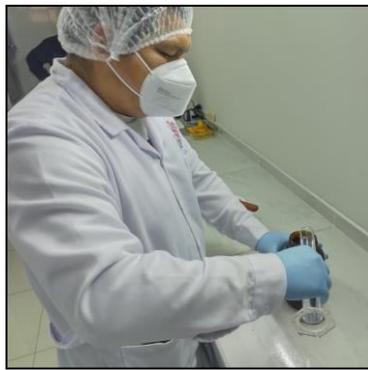


2.2 Extracción

a. Macerado

El proceso de extracción se realizó macerando, dentro de un frasco ámbar, el material obtenido luego de la molienda con etanol de 70°. El proceso de maceración se realizó durante 7 días, sometiéndolo a agitación mecánica todos los días.

- Cantidad de muestra a macerar: 322.9 gr
- Solvente: etanol 70°
- Cantidad de solvente: 500 ml
- Días de macerado: 7 días



Proceso
de maceración



b. Filtrado

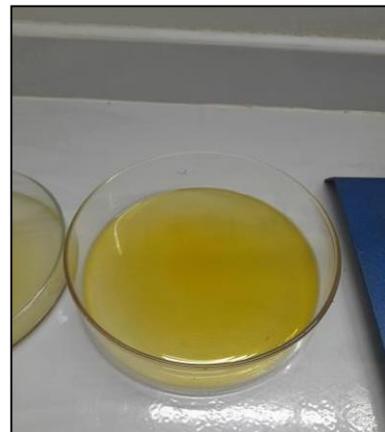
El líquido resultante del proceso de maceración fue filtrado empleando papel de filtro whatman N°1 y un embudo de vidrio.



c. Obtención extracto seco

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

- Temperatura: 40°C
- Tiempo de secado: 48 horas
- Cantidad extracto obtenido: 101.8g



Proceso de obtención de extracto seco



Porcentaje de rendimiento

Determinación del porcentaje de rendimiento

Tenemos la cantidad de producto obtenido en la extracción química.

$$\%E = \frac{Pf}{Pi} \times 100$$

Dónde: %E = porcentaje de rendimiento

Pf = peso final (extracto seco)

Pi = peso inicial (muestra molida)

Fuente: Efecto de los extractos secos clorofórmico y de diclorometano de *Tropaeolum tuberosum* (Ruiz & Pavón) mashua sobre los parámetros seminales y toxicidad aguda

<http://www.scielo.org.co/pdf/rccqf/v48n1/0034-7418-rccqf-48-01-94.pdf>

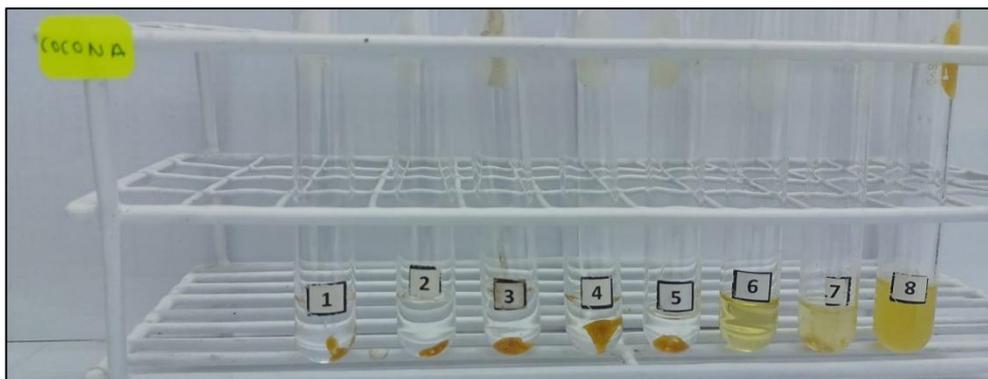
Extracción por maceración

$$\%E = \frac{101.8g}{322.9g} \times 100 = 31.5\%$$

Pf= gr extracto seco obtenido

Pi = gr. muestra molida

PROCEDIMIENTO DE ANALISIS DE SOLUBILIDAD



- 1. Procedimiento:** Para el análisis de solubilidad se procedió a añadir 1 g de extracto seco en cada tubo de ensayo seguido se adicionó 1 ml de cada solvente, luego se agito en un equipo vortex, finalmente, se observó la afinidad del extracto seco por cada solvente en estudio.

PROCEDIMIENTO DE MARCHA FITOQUIMICA



- 2. Procedimiento:** Para el análisis de la marcha fitoquímica se procedió a añadir 1 ml de extracto etanólico del mesocarpio de *Solanum sessiliflorum* Dunal (Cocona) en cada tubo de ensayo seguido se adicionó 1 ml de cada reactivo, finalmente, se evidenció los metabolitos secundarios por medio de coloración y precipitación.

INFORME ENSAYO MICROBIOLÓGICO

I. MÉTODO

Método de difusión en pozos (Kirby Bauer modificado)

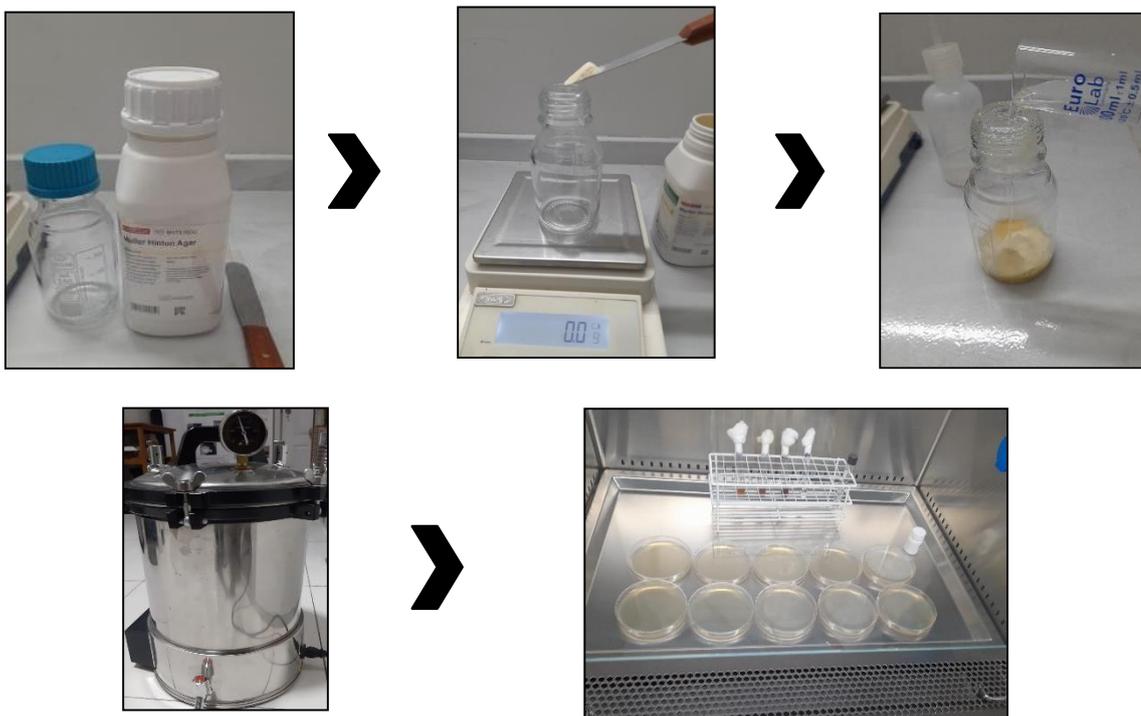
Consiste en depositar dentro de pozos elaborados sobre la superficie de una placa con agar previamente inoculada con el microorganismo, diferentes sustancias a evaluar.

1. Preparación de Medio de Cultivo

1.1 Agar Mueller Hinton

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

- Se pesó 7.6 gr. de la base deshidratada y se adicionó 200 ml de agua destilada, a continuación, se procedió a calentar con agitación frecuente hasta lograr la disolución total del medio de cultivo, por último se esterilizó en autoclave sometándolo a 15 libras de presión (121°C) durante 15 minutos.
- Una vez finalizado el proceso en la autoclave se dejó enfriar hasta que el medio de cultivo alcanzó una temperatura entre 45°C – 50°C y se distribuyó en placas petri estériles de 90 x 15 mm.



Esquema del proceso de preparación del medio de cultivo

2. Activación de la cepa: Kwik-stik microbiologics - *Proteus mirabilis* ATCC 29906

Para preparar el inóculo se empleó el producto Kwik-stik microbiologics® que contiene a la cepa de *Proteus mirabilis* ATCC 29906 liofilizada en un pelet.

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



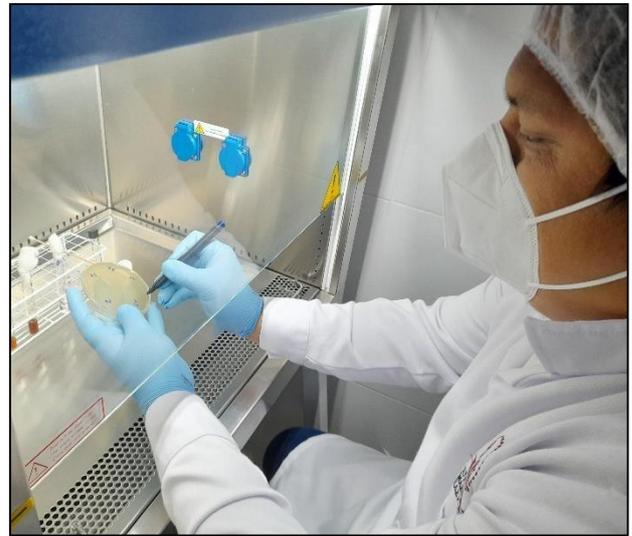
3. Método de preparación del inóculo

- a. Se realizó la suspensión directa, en solución salina (cloruro de sodio 0.9%), de colonias obtenidas de la placa con agar TSA anteriormente incubada durante 24 horas.



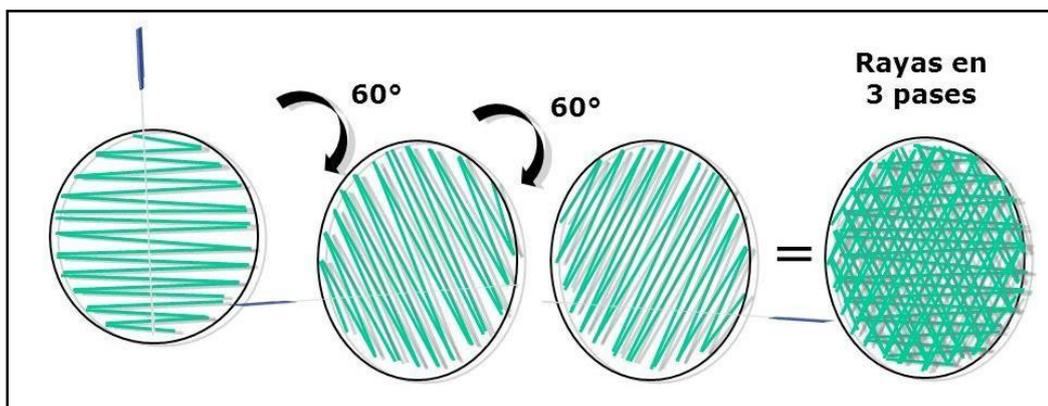
Placa con agar TSA conteniendo cepa de *Proteus mirabilis* ATCC 29906

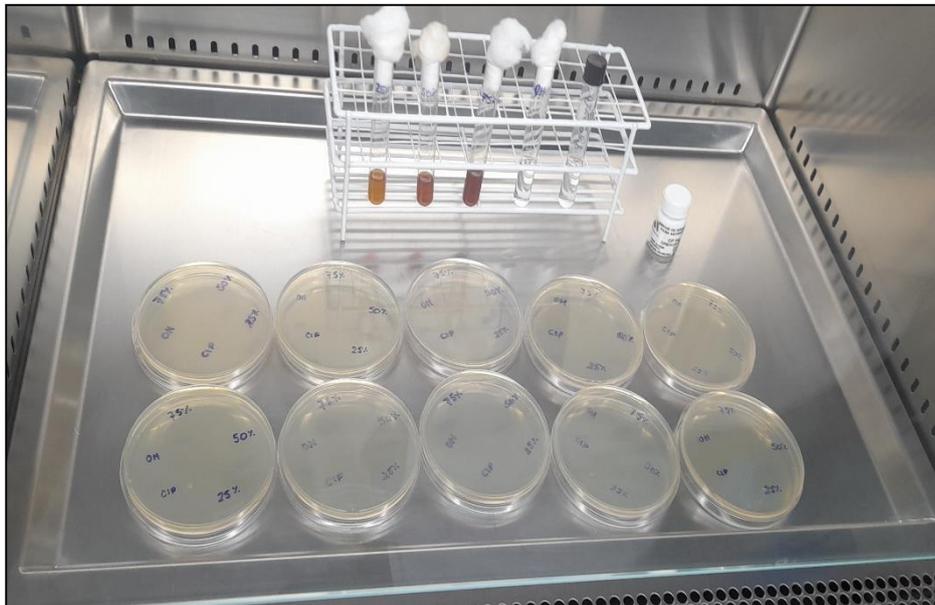
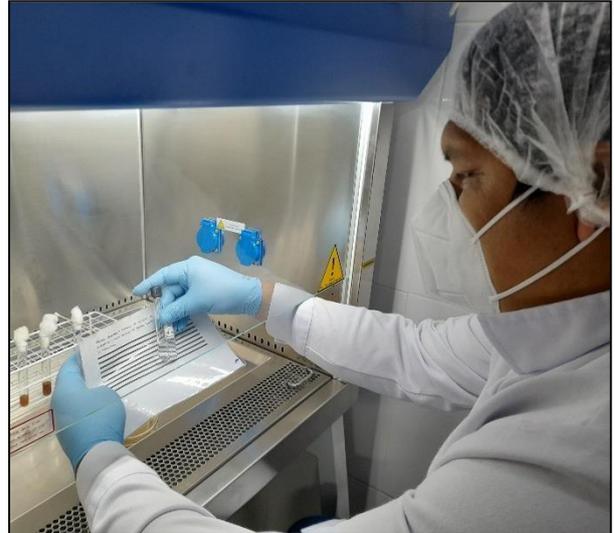
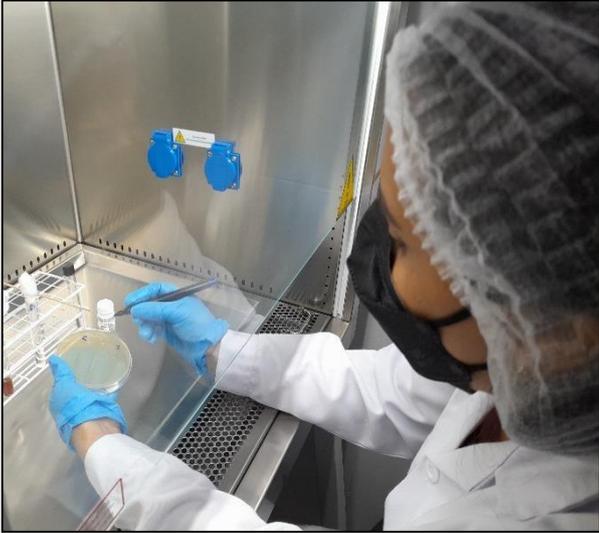
- b. La turbidez resultante fue inmediatamente ajustada comparándola de manera visual con la turbidez del estándar 0.5 de Mc. Farland.



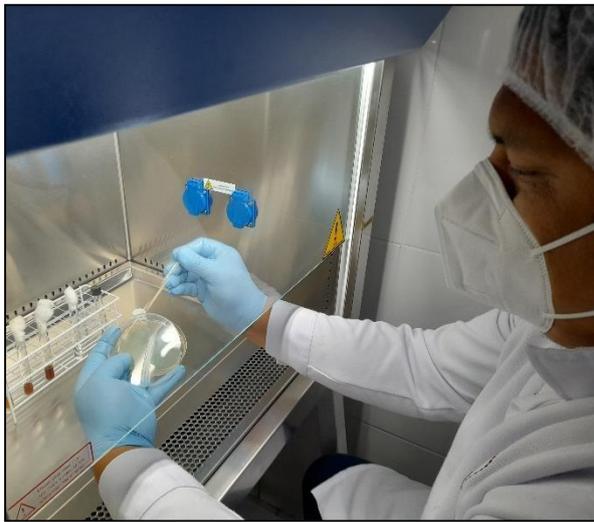
4. Inoculación de placas

- Dentro de los 15 minutos posteriores al ajuste de la turbidez del inóculo, se procedió a sumergir un hisopo estéril en la suspensión obtenida; el hisopo se rotó varias veces presionando firmemente sobre la pared interior del tubo y por encima del nivel del líquido, esto con la finalidad de remover el exceso de inóculo.
- Posteriormente se inoculó sobre la superficie seca del agar Muller Hinton, para esto se realizaron estrías en tres direcciones diferentes rotando la placa 60° cada vez, esto con la finalidad de asegurar una distribución uniforme del inóculo.
- Previamente todas las placas fueron marcadas para posteriormente realizar los pozos empleando un sacabocado de 6 mm de diámetro.





Rotulado de placas



Siembra en placas con *Proteus mirabilis*



Realizando pozos en agar con ayuda de un sacabocado

5. Preparación de sustancias experimentales

Se preparó las sustancias experimentales a diferentes concentraciones partiendo del extracto seco, para posteriormente adicionar 30 uL de las mismas, con ayuda de una micro pipeta, en cada uno de los pozos realizados anteriormente.

- Extracto de cocona al 75%
- Extracto de cocona al 50%
- Extracto de cocona al 25%
- Etanol de 70°
- Discos de ciprofloxacino 5 ug



- **Extracto etanólico de cocona al 75 %**

Preparación de 10 ml de extracto hidroalcohólico de cocona al 75 %:

Se pesó 7.5 gr de extracto seco de cocona y se adicionó un poco de etanol de 70° con la finalidad de disolverlo; por último se pasó la mezcla a una fiola de 10 mL, se enrasó con etanol de 70° hasta el aforo y se homogenizó.

- **Extracto etanólico de cocona al 50%**

Preparación de 10 ml de extracto hidroalcohólico de cocona al 50%

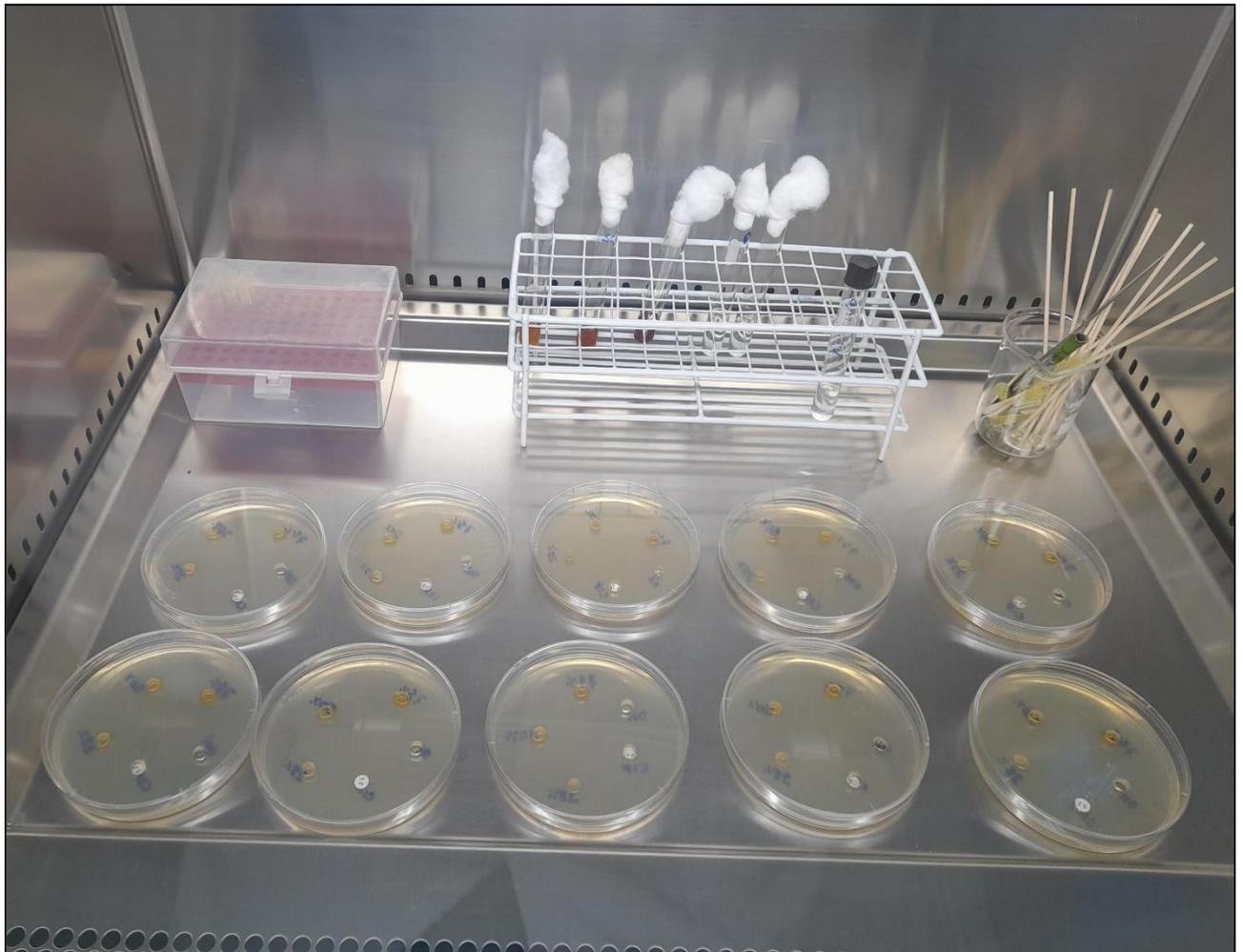
Se pesó 5 gr de extracto seco de cocona y se adicionó un poco de etanol de 70° con la finalidad de disolverlo; por último se pasó la mezcla a una fiola de 10 mL, se enrasó con etanol de 70° hasta el aforo y se homogenizó.

- **Extracto etanólico de cocona al 25%**

Preparación de 10 ml de extracto hidroalcohólico de cocona al 25%

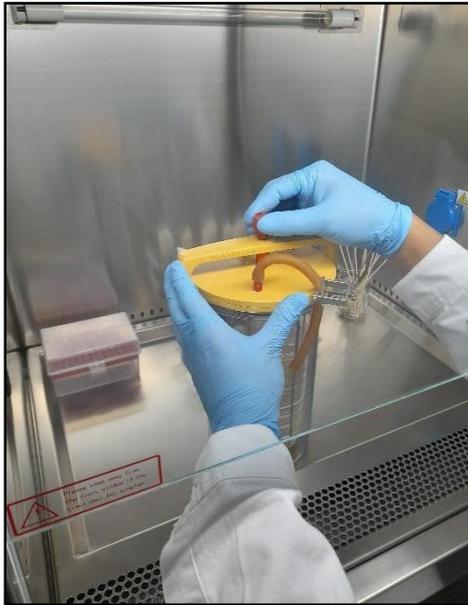
Se pesó 2.5 gr de extracto seco de cocona y se adicionó un poco de etanol de 70° con la finalidad de disolverlo; por último, se pasó la mezcla a una fiola de 10 mL, se enrasó con etanol de 70° hasta el aforo y se homogenizó.

- **Etanol de 70°**
- **Discos de ciprofloxacino 5 ug**



6. Incubación

Las placas se incubaron durante 24 horas dentro de una jarra de anaerobiosis a 37°C después de los 15 minutos siguientes de adicionadas las sustancias experimentales.



7. Lectura de resultados

Halos de inhibición de los 5 grupos fueron medidos empleando un vernier.

