



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

ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO
ETANÓLICO DE LAS HOJAS DE *Crescentia cujete* L.
(TOTUMO) FRENTE A *Staphylococcus aureus* ATCC
25923

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE QUÍMICO
FARMACÉUTICO

AUTORES:

Bach. ESPINOZA OLAZABAL, CLARIS GABY

<https://orcid.org/0009-0003-9726-7202>

Bach. SUYON ENRIQUEZ DE RODAS, MARIELA ESTHER

<https://orcid.org/0009-0005-9987-430X>

ASESOR:

Dr. ACARO CHUQUICAÑA, FIDEL ERNESTO

<https://orcid.org/0000-0003-1257-299X>

LIMA – PERÚ

2023

DECLARACIÓN JURADA DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD

Yo, Espinoza Olazábal Claris Gaby, con DNI 44062696 en mi condición de autor(a) de la tesis presentada para optar el TÍTULO PROFESIONAL de Químico Farmacéutico de título "ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS HOJAS DE *Crescentia Cujete L.* (TOTUMO) FRENTE A *Staphylococcus aureus* ATCC 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 21 % 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, 02, de abril 2023.



ESPINOZA OLAZABAL CLARIS GABY
44062696



DR. FIDEL ERNESTO ACARO CHUQUICAÑA
07459338

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

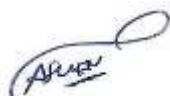
DECLARACIÓN JURADA DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD

Yo, Suyon Enriquez de Rodas Mariela Esther, con DNI 16805842 en mi condición de autor(a) de la tesis presentada para optar el TITULO PROFESIONAL de Químico Farmacéutico de título "ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS HOJAS DE *Crescentia Cujete L.* (TOTUMO) FRENTE A *Staphylococcus aureus* ATCC 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 21 % 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, 02, de abril 2023.



SUYON ENRIQUEZ DE RODAS MARIELA
16805842



DR. FIDEL ERNESTO ACARO CHUQUICAÑA
07459338

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

ANTIPLAGIO TURNITIN ESPINOZA-SUYON

INFORME DE ORIGINALIDAD

21%

INDICE DE SIMILITUD

21%

FUENTES DE INTERNET

3%

PUBLICACIONES

2%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1

repositorio.uma.edu.pe

Fuente de Internet

19%

2

repositorio.uoosevelt.edu.pe

Fuente de Internet

2%

Excluir citas

Activo

Excluir coincidencias < 2%

Excluir bibliografía

Activo

DEDICATORIA

A DIOS, el artífice de mi vida que me da la fortaleza necesaria para enfrentar todos los obstáculos que se presentaron a lo largo de mi carrera y trabajo.

A MIS PADRES, Esther y Palermo que me criaron a mí y a mis 09 hermanos con buenos valores, principios y buenos sentimientos, que a lo largo de mi carrera me han servido para asumir los retos del día a día.

A MI ESPOSO, José Miguel Rodas, por el gran apoyo que siempre me brindo y lo siguen haciendo.

Mariela Esther

A DIOS, por nunca dejar que me dé por vencida y hacerme sentir que siempre estaba conmigo en todos y cada uno de mis días.

A MIS PADRES, Brenis y Emerita por ser mi cimiento en cada decisión que he tomado y no soltar mi mano a pesar de las circunstancias para continuar con mis proyectos.

A MIS HERMANOS, Diego y Yeimi por ser mis cómplices y por su asistencia a pesar de las responsabilidades que ellos tenían a su corta edad.

A MIS HIJOS, Adriana, Dayana y Andrew por ser mi motor y motivo para explorar nuevas y mejoras oportunidades en la vida y por ser el complemento perfecto en ella.

Clarís Gaby

AGRADECIMIENTO

A nuestra Universidad María Auxiliadora, por compartirnos a través de sus maestros los conocimientos que hemos adquirido.

Especial reconocimiento a nuestro asesor: Mg. Q.F. Fidel Ernesto Acaro Chuquicaña por su tiempo, dedicación y excelente idoneidad desde el primer momento para darnos una asesoría íntegra

Al Q.F. Segundo M. Silva Romero y Q.F. Gilmer Medina Ochoa que nos han apoyado y guiado en el transcurso de la realización de esta tesis.

A todos nuestros amigos, en especial a María Sequeiros, Esther Díaz y Manuel Condor por ser un refuerzo en todo el transcurso de nuestra carrera.

ÍNDICE GENERAL

	Páginas
DEDICATORIA.....	5
AGRADECIMIENTO.....	6
RESUMEN	11
ABSTRACT	12
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. MATERIALES Y MÉTODOS	8
II.1. Enfoque y diseño de la investigación	8
II.2. Población, muestra y muestreo.....	8
II.3. Variables de investigación.....	9
II.4. Técnicas e instrumentos para la recolección de datos.....	9
II.5. Plan metodológico para la recolección de datos	10
II.6. Procesamiento del análisis estadístico.....	11
II.7. Aspectos éticos	11
III. RESULTADOS	12
IV. DISCUSIÓN	19
IV.1. Discusión de resultados.....	19
IV.2. Conclusiones.....	23
IV.3. Recomendaciones.....	24
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	25
ANEXOS	29
ANEXO A: Instrumento de recolección de datos	29
ANEXO B: Matriz de consistencia.....	30
ANEXO C: Operacionalización de las variables.....	31
ANEXO D: Validación del instrumento.....	32

ANEXO E: Carta de presentación de la Universidad	35
ANEXO F: Carta de aceptación del laboratorio.....	36
ANEXO G: Certificación botánica de la planta en estudio.....	37
ANEXO H: Certificado de análisis ATCC de la bacteria.....	38
ANEXO I: Fotografías del desarrollo del estudio.....	40

ÍNDICE DE TABLAS

	Páginas
Tabla 1. Actividad antibacteriana del extracto etanólico de las hojas de <i>Crescentia cujete</i> L. a la concentración de 50%, 75% y 100% frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	12
Tabla 2. Prueba de distribución normal	14
Tabla 3. Prueba de homogeneidad de varianzas (Levene)	15
Tabla 4. Análisis de la varianza (ANOVA)	16
Tabla 5. Análisis por sub grupos homogéneos mediante la prueba de Tukey	17
Tabla 6. Sensibilidad antibacteriana según la escala de Duraffourd	18

ÍNDICE DE FIGURAS

	Páginas
Figura 1. Actividad antibacteriana del extracto etanólico de las hojas de <i>Crescentia cujete</i> L. (Totumo) a la concentración de 50%, 75% y 100% frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	13

RESUMEN

Objetivo: Evaluar la actividad antibacteriana del extracto etanólico de las hojas de *Crescentia cujete* L. (Totumo) frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Metodología: El estudio presentó enfoque cuantitativo, diseño experimental y prospectivo. La población estuvo representada por 5 kilogramos de hojas de *Crescentia cujete* L. recolectado del distrito de Pomahuaca, provincia de Jaen-Cajamarca, la muestra fue 2 kilogramos de hojas; el extracto se obtuvo por maceración etanólica y el estudio microbiológico se realizó por difusión en pozo, la estadística se basó en un nivel de significancia del 0.05 mediante las pruebas de ANOVA y Tukey.

Resultados: Entre los hallazgos se obtuvieron halos de inhibición de $13,35 \pm 0,52$ mm para la concentración al 50%, de $14,41 \pm 0,34$ mm para el extracto al 75% y de $15,28 \pm 0,45$ mm para el extracto al 100%, con respecto al control negativo el halo de inhibición promedio fue $6,01 \pm 0,39$ mm y el control positivo $14,41 \pm 0,34$ mm $26,97 \pm 0,32$ mm; este último resultó presentar mayor actividad antibacteriana que el extracto de la planta mediante el análisis estadístico y la escala de Duraffourd.

Conclusión: El extracto etanólico de las hojas de *Crescentia cujete* L. frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, presenta actividad antibacteriana a las concentraciones del estudio al 50%, 75% y 100%.

Palabras clave: Actividad antibacteriana, *Crescentia cujete*, *Staphylococcus aureus*, Totumo.

ABSTRACT

Objective: To evaluate the antibacterial activity of the ethanolic extract of the leaves of *Crescentia cujete* L. (Totumo) against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Methodology: The study presented a quantitative approach, experimental and prospective design, the population represented by 5 kilograms of *Crescentia cujete* L. leaves collected from the Pomahuaca district, Jaen-Cajamarca province, the sample was 2 kilograms of leaves; the extract was obtained by ethanolic maceration and the microbiological study was carried out by diffusion in the well, the statistics were based on a significance level of 0.05 through the ANOVA and Tukey tests.

Results: Inhibition halos of 13.35 ± 0.52 mm were obtained for the 50% concentration, 14.41 ± 0.34 mm for the 75% extract and 15.28 ± 0.45 mm for the 100% extract. with respect to the negative control, the average inhibition halo was 6.01 ± 0.39 mm and the positive control 14.41 ± 0.34 mm 26.97 ± 0.32 mm; the latter turned out to present greater antibacterial activity than the plant extract through statistical analysis and the Duraffourd scale.

Conclusion: The ethanolic extract of the leaves of *Crescentia cujete* L. against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, presents antibacterial activity at the study concentrations (50%, 75% and 100%).

Key words: *Antibacterial activity, Growthia cujete, Staphylococcus aureus, Totumo.*

I. INTRODUCCIÓN

Con el descubrimiento de la penicilina en 1928 se marcó un gran paso en la lucha contra las bacterias abriendo camino a la producción a gran escala por la industria farmacéutica en la actualidad de aproximadamente 100000 toneladas anuales de antibióticos a nivel mundial; sin embargo, la resistencia bacteriana está convirtiendo esta situación en una constante lucha, teniendo que recurrir al descubrimiento de nuevas fuentes que ayuden a combatir a las bacterias¹.

Una de las bacterias que se ha observado viene presentando altos índices de resistencia bacteriana es *Staphylococcus aureus* además de ser una de las bacterias que conviven con el hombre por encontrarse en todos los ambientes, lo que la vuelve extremadamente infectiva, aunque las cepas más resistentes se encuentran a nivel nosocomial ya se vienen presentando cepas resistentes a nivel de la comunidad².

Aunque hay diferencias en la tasa de consumo de antibióticos en los diferentes países y regiones, se estima que, si elegimos un día cualquiera, en un hospital cualquiera, alrededor del 30% de los pacientes ingresados estará siguiendo una pauta antibiótica. En cuanto al consumo antibiótico, el país español se sitúa sobre la media europea, con unas cifras estimadas del 46%. En salud humana, se calcula que la pauta inadecuada de un tratamiento antibiótico ocurre en cerca del 50% de las ocasiones, ya sea en el ámbito intrahospitalario como comunitario. En España, la prescripción de cefalosporinas y fluoroquinolonas es especialmente elevada³.

En América Latina, se realizó un estudio donde se encontró que *Staphylococcus aureus* es causante de infecciones transmitidas por alimentos. En Brasil se analizaron 114 muestras de alimentos preparados y carnes crudas de un hospital público donde 98 dieron positivo para *Staphylococcus aureus* meticilino resistente (SARM), en Colombia el 18.5% de 65 muestras de queso y el 27% de leche estaban contaminadas con SARM⁴.

A nivel nacional, diversos estudios como el realizado por Martínez A, et al (2017)

en Lima evidenciaron presencia de *Staphylococcus aureus* meticilino resistente, donde se analizaron muestras procedentes del hospital encontrándose que el 55% de los pacientes presentan *Staphylococcus aureus* meticilino resistente las que generalmente se asocian con enfermedades de la piel y mucosas, siendo esta bacteria resistente a eritromicina y azitromicina⁵.

En el departamento de Lambayeque el Hospital Regional (2022), realizaron una investigación donde se encontró una elevada resistencia de la bacteria *Staphylococcus aureus*. Se evaluaron 303 muestras del cual el 83.17% fueron portadores de *S. aureus*, encontrándose mayormente en la zona nasal y faríngea, además presentó una resistencia para Oxacilina del 94.07% y para tetraciclina del 45.53%, atribuyéndose la causa al uso de fluoroquinolonas⁶.

Con respecto a la pregunta de investigación se formuló: ¿Presentará actividad antibacteriana el extracto etanólico de las hojas de *Crescentia cujete* L. (Totumo) frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923?

Crescentia cujete L. pertenece a la familia *Bignoniaceae*, se propaga a través de sus semillas y se cultiva en todas las regiones del mundo, sin embargo, no soporta temperaturas por debajo de 0°C. Es conocido también internacionalmente como "fruta/árbol milagroso" o a veces "árbol de calabaza". Es un árbol con flores de tamaño pequeño o mediano que crece hasta 10 metros y desarrolla muchas ramas arqueadas. Cada rama desarrolla grupos cerrados de hojas que generalmente están dispuestas alternativamente. Las hojas verdes son romas en la punta y estrechadas en la base, creciendo hasta 17 centímetros de largo, y tienen una superficie superior brillante. También desarrolla flores a partir de los brotes que están directamente unidos al tronco principal. El fruto es redondeado, ovalado u oblongo, mide 20 centímetros de diámetro o más, y en su mayoría verde o a veces violáceo cuando es joven y luego se vuelve marrón a medida que madura^{7,8}.

Se sabe que el fruto del *Crescentia cujete* L. tiene muchas propiedades medicinales que se establecieron desde hace mucho tiempo para tratar muchas enfermedades. Los estudios han sugerido propiedades antibacterianas,

antidiabéticas, neutralizantes del veneno de serpiente, antiangiogénicas, depresivas del SNC, antimicrobacterianas, antiinflamatorias, citotóxicas, cicatrización de heridas, agregación antiplaquetaria y antihelmínticas. Por lo tanto, la fruta totumo se conoce como la "fruta milagrosa". Su corteza también se utiliza para la diarrea mucoide y para limpiar heridas. Además, cuando la fruta es hervida se emplea como antidiarreico, para dolores de estómago, resfriado, bronquitis, tos, asma y uretritis⁹.

Diversos estudios comprobaron que *Crescentia cujete* L. presenta principios como saponinas, flavonoides, cardenólidos, taninos y compuestos fenólicos, además otros como sodio y el fósforo que tienen altas concentraciones medias al igual que la sacarosa, la fructosa, la galactosa, otro estudio reveló que existe también la presencia de glucósidos cardíacos, taninos y antraquinonas^{10,11}.

Algunos compuestos bioactivos de *Crescentia cujete* han sido aislados e identificados a través de técnicas espectrofotométricas, como tamizaje fitoquímico y cromatográfico preliminar, tal es el caso de metabolitos importantes como ácidos orgánicos, saponinas, fenoles y taninos. Los ácidos orgánicos actúan como antiinflamatorios y antiespasmódicos, los taninos tienen acción bactericida y fungicida, mientras que las saponinas tienen actividad antimicrobiana y espermicida. También se ha evidenciado antraquinonas y cardenólidos, que al ser aislados o extraídos en forma de fitocomplejo, pueden ser utilizados en la producción de fitofármacos¹².

Asimismo, con respecto a, *Staphylococcus aureus* es un coco grampositivo que coloniza la mucosa nasal y la piel de individuos sanos. Este organismo es caracterizado como causal de varias enfermedades infecciosas a la piel o tejidos blandos, incluso enfermedades sistémicas y letales. En particular, meticilina-resistentes. *S. aureus* (MRSA) es un organismo peligroso debido a su resistencia a múltiples antibióticos y su capacidad de formación de biopelículas^{13,14}.

S. aureus posee un factor de virulencia específico llamado coagulasa, que desempeña un papel importante en la formación de biopelículas durante las infecciones. La coagulasa se une a la protrombina del huésped y forma complejos de estafilotrombina activa, que convierte el fibrinógeno monomérico

soluble en fibrina insoluble autopolimerizable y activa una cascada de coagulación. Este fenómeno se ha utilizado en laboratorios de microbiología clínica como prueba de coagulasa para poder diferenciar especies de *Staphylococcus* spp. En los últimos años, algunos informes han sugerido que *S. aureus* utiliza la fibrina y el fibrinógeno reclutados por la coagulasa para formar la estructura de la biopelícula¹⁵.

Informes anteriores demostraron evidencias de resistencia a los antibióticos en bacterias formadoras de biopelículas. Incluso en condiciones sin plasma; estas bacterias exhiben una alta resistencia a una variedad de antibióticos. La barrera a la acumulación y penetración de antibióticos debido a la estructura de la biopelícula, además de la naturaleza tolerante y estática de las bacterias, son cruciales para la resistencia a los antibióticos en este tipo de bacterias¹⁶.

Los antecedentes internacionales del estudio se basan en los trabajos de: Nurjanah S. et al (2021), quienes elaboraron una crema a base de un extracto de hojas de *Crescentia cujete* y determinaron su potencial antibacteriano contra cepas de *Staphylococcus aureus*. La crema con el extracto demostró efectividad al inhibir a *S. aureus* con halo de inhibición a una concentración del 15% con un promedio de halo de $11,52 \pm 0,95$ mm, concluyendo que la crema de *Crescentia cujete* en crema presenta actividad antibacteriana contra *Staphylococcus aureus*¹⁷.

También, Ridwanuloh D. et al (2021), en su publicación elaboraron un extracto etanólico a partir del fruto *Crescentia cujete* L. con el propósito de identificar sus metabolitos activos y determinar por el método de difusión en pozo el potencial antibacteriano sobre *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. Los metabolitos encontrados fueron alcaloides, flavonoides, saponinas y triterpenoides; con respecto al potencial antibacteriano, mostró que el extracto etanólico puede inhibir la bacteria *Staphylococcus aureus* con un halo inhibitorio promedio de 17,2mm al 100%, en concentración del 50% formó un halo de 14,85mm, al 25% un halo de 13,56 mm, al 12,5% un halo de 13,36 mm y al 6,25% su halo fue de 11,46mm de diámetro¹⁸, por lo tanto concluye, que el extracto etanólico del fruto *Crescentia cujete* L. presenta actividad antibacteriana¹⁸.

Por su parte, Balogun F. et al (2021), elaboraron un estudio con el objetivo de analizar los compuestos fitoquímicos, así como las propiedades antibacterianas del extracto etanólico de hojas de *Crescentia cujete* L. en colonias *Staphylococcus aureus*, *S. dysenteriae*, *S. paratyphi*, *E. coli*, *B. subtilis* y *B. cereus* a través del método de copa de agar y difusión en disco a diferentes concentraciones. Todas las cepas fueron sensibles al extracto etanólico y los halos de inhibición promedio fueron de 20.06 mm después de 48 horas de exposición con el extracto, concluyendo que existe actividad antibacteriana del extracto etanólico de hojas de *Crescentia cujete* L. en colonias *Staphylococcus aureus*, *S. dysenteriae*, *S. paratyphi*, *E. coli*, *B. subtilis* y *B. cereus*¹⁹.

Hasanah U. et al (2018), definieron como objetivo en su estudio, determinar la actividad antibacteriana y la Concentración Mínima Inhibitoria (MIC) del extracto etanólico de cáscara y pulpa del fruto de *Crescentia cujete* contra *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. El análisis antibacteriano no mostró zona de inhibición en ambos extractos contra *E. coli*, pero sí, sobre el crecimiento de *Staphylococcus aureus* a la concentración de 80% y 100%. La CIM del extracto etanólico de la cáscara del fruto de *Crescentia cujete* sobre el crecimiento de *S. aureus* se obtuvo a una concentración del 65%, el estudio concluyó que el extracto etanólico de cáscara y pulpa del fruto de *Crescentia cujete* presentan actividad antibacteriana contra *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*²⁰.

Onculada M, Mabasa M (2017) mediante su investigación en la India, la cual se centró en el estudio del potencial antimicrobiano del fruto de *Crescentia cujete*, también conocido como árbol de Calabasa contra infecciones comunes de *Staphylococcus aureus*, una bacteria grampositiva, y *Escherichia coli*, que es una bacteria gramnegativa. En la metodología empleada los extractos acuosos del fruto se obtuvieron por maceración durante 24 horas a temperatura ambiente, el diseño de la investigación experimental se utilizó a través del método de difusión del disco. Los resultados del estudio no revelaron ningún efecto antibacteriano del extracto etanólico del fruto de *Crescentia cujete* contra *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*.(1)

Hartati, H, et al. (2017) mediante su investigación realizada sobre la actividad antimicrobiana de extracto de hoja L de *Crescentia cujete* contra *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Candida albicans*, este estudio tuvo como objetivo probar la actividad antimicrobiana del extracto de hoja L de *Crescentia cujete* contra *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Candida albicans*. El método empleado fue la maceración la cual se utilizó para extraer de las hojas de *Crescentia cujete* L los metabolitos secundarios, utilizando dos disolventes, el etanol al 70% y acetato de etilo. El rendimiento del extracto de etanólico de la hoja L de *Crescentia cujete* obtuvo un rendimiento de más del 28,5% en comparación con el 4,4% de extracto de acetato de etilo. Se concluyó que el extracto etanólico de la hoja de *Crescentia cujete* L presentó actividad antimicrobiana, ya que logró inhibir el crecimiento de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Candida albicans* a una concentración del 10%, sin embargo, el extracto obtenido con acetato de etilo no presentó dicha actividad.(2)

Por último, Ortiz, M. et al (2016), publicaron un artículo donde evidenciaron mediante un examen fitoquímico la presencia de metabolitos activos del extracto hidroalcohólico de la hoja de *Crescentia cujete* y se elaboró un gel tópico con el extracto sobre una herida con edema. Los metabolitos encontrados en el extracto fueron esteroides, triterpenos, saponinas, taninos, flavonoides, quinonas y cumarinas, asimismo, la formulación en gel con extracto hidroalcohólico de *Crescentia cujete* presentó una leve acción antiinflamatoria²¹.

El presente estudio se plantea en atención al aumento desmesurado de resistencia por parte de *Staphylococcus aureus* hacia los fármacos, más aún cuando es un agente de fácil transmisión en las personas, pudiendo causar problemas sanitarios en la sociedad. Por ello, a través de este estudio se desea encontrar que las hojas de *Crescentia cujete* L. preparadas en extracto con etanol tengan efecto antibacteriano in vitro sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 para brindar un beneficio sanitario a la comunidad, ya que la especie vegetal es muy común en algunas poblaciones y de fácil acceso. Además, ayudaría a disminuir los niveles de la resistencia bacteriana y algunas enfermedades infecciosas.

El objetivo general de la investigación es evaluar la actividad antibacteriana del extracto etanólico de las hojas de *Crescentia cujete* L. (Totumo) frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Ante esta situación nos planteamos la hipótesis general: El extracto etanólico de las hojas de *Crescentia cujete* L. (Totumo) a la concentración de 50%, 75% y 100% presenta actividad antibacteriana frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

II.1. Enfoque y diseño de la investigación

- Enfoque Cuantitativo: Porque busca determinar mediante estudios estadísticos en las variables la relación de causalidad.
- Diseño experimental: Porque el investigador intervendrá mediante la modificación y estimulación de las variables para demostrar su relación.
- Estudio prospectivo. Porque los datos serán recolectados en un tiempo posterior al estudio de las variables de experimentación²²⁻²⁴.

II.2. Población, muestra y muestreo

Población: Estuvo constituido por 5 kilogramos de hojas de *Crescentia cujete* L. recolectado en el distrito de Pomahuaca, de la provincia de Jaen, departamento Cajamarca ubicada a una distancia de 5.9272° de latitud Sur y una longitud Oeste de 79.2327°.

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

Muestra: Se empleó 2 kilogramos de hojas de *Crescentia cujete* L. que cumplió los siguientes criterios

Criterio de inclusión: Muestra fue fresca, sin signos de contaminación o plaga, recolectada directamente de la planta.

Criterio de exclusión: Muestra correspondiente a otra especie en estudio, recolectada de otra área geográfica o en otro momento.

Unidad de análisis: representada por la cepa microbiológica correspondiente a la bacteria *Staphylococcus aureus* 25923, la que fue proporcionada por el Laboratorio GenLab SAC, quien brindó la certificación análisis de la bacteria.

Muestreo: Aleatorio simple, porque la muestra fue recolectada al azar otorgando la misma probabilidad de selección dentro de todo el terreno de

cultivo.

II.3. Variables de investigación

Variable independiente: Extracto etanólico de las hojas de *Crescentia cujete* L. (Totumo).

- **Definición conceptual.** Producto de consistencia pastosa obtenida de las hojas de la planta y que presenta sustancias activas de la misma.
- **Definición operacional.** Producto obtenido por maceración de las hojas de *Crescentia cujete* L.

Variable dependiente: Actividad antibacteriana frente a *Staphylococcus aureus* 25923

- **Definición conceptual.** Inhibición en el crecimiento de *Staphylococcus aureus* 25923
- **Definición operacional.** Medición del halo de inhibición formado en los cultivos de *Staphylococcus aureus* 25923

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

Ficha de recolección de datos para la actividad microbiológica:

- La ficha de recopilación de datos para la actividad microbiológica, se realizó siguiendo la información proporcionada por Vásquez y Barturen (2021)²⁵, la ficha recogió el registro de la actividad microbiológica basada en la zona de inhibición formada y estuvo dividida en grupos de tratamiento experimental (50%, 75% y 100%) de los grupos control etanol y ceftriaxona (100mg/mL), tomando en consideración 15 repeticiones para cada grupo de tratamiento.

II.5. Plan metodológico para la recolección de datos

II.5.1 Elaboración del extracto

La elaboración del extracto se realizó siguiendo el método propuesto por Vásquez y Barturen (2021)²⁵, las hojas seleccionadas de *Crescentia cujete* L. fueron lavadas con agua corriente y desinfectadas con hipoclorito de sodio al 0.1% v/v disuelto en agua por 3 minutos, y luego fueron lavadas nuevamente para eliminar el hipoclorito de sodio, luego fueron llevadas sobre papel Kraft a una mesa a corriente de aire directa para su secado y posterior deshidratación en estufa.

Luego fueron trituradas y pulverizadas en un molinillo de sincronización seco. El pulverizado fue colocado en frascos ámbar de 4.0 litros de capacidad donde se agregó el doble en volumen de etanol de 96°, se dejó macerar por 10 días a temperatura ambiente, agitando cada 12 horas por 5 minutos.

Trascurrido este tiempo el macerado fue filtrado con papel de filtro Whatman Nro. 01 y el filtrado se colocó en la estufa a 45°C hasta evaporación completa. El extracto obtenido fue preparado a las concentraciones del 50% (50 mg/mL), 75% (75 mg/mL) y 100% (100 mg/mL), mediante pesada directa y disolución con etanol de 96°, los extractos fueron ser colocados en frascos ámbar y rotulados

II.5.2 Actividad antibacteriana

El desarrollo de la actividad antibacteriana se realizó siguiendo el método propuesto por Alvarez B (2020)²⁶, la cepa de *Staphylococcus aureus* 25923 una vez adquirida, fue suspendida en caldo TSA y puesta en incubación por 24 horas a 37°C, posteriormente con un hisopo se sembró en estrías en agar Braid Parker por 48 horas y llevadas a incubación por 24 a 48 horas, se visualizó el crecimiento de colonias.

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

De este último tubo se realizaron los sembrados en placa Petri con agar Mueller Hinton en 30 placas Petri donde se dividieron en dos grupos de 15

placas cada una, en el grupo I se prepararon 3 pocitos de 6 mm de diámetros y en el otro grupo II se prepararon 2 pocitos, en el grupo I, se rotulo cada pozo con los valores de 50%, 75% y 100% donde se colocaron 30 uL de los extractos respectivamente según la concentración. En el grupo dos se aplicaron 30 ul de etanol 96° (control negativo) y ceftriaxona 100 mg/ml (control positivo).

Las placas se llevaron a incubación por 24 horas a $37^{\circ}\text{C} \pm 1$ y luego de este tiempo se verificaron los halos de inhibición formados y procedió a realizar las mediciones de las zonas de inhibición mediante el vernier digital para posteriormente registrarlo en la ficha de recolección de datos.

II.6. Procesamiento del análisis estadístico

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

II.7. Aspectos éticos

Los principios éticos tomados en cuenta para el estudio experimental, se aplicó las normas de bioseguridad a nivel del laboratorio de microbiología, considerando las estrictas medidas de control ante la presencias de seres vivos con alta capacidad de contaminación cruzada. Asimismo, el trabajo de investigación representó un gran esfuerzo de las autoras y por lo tanto recae la responsabilidad de ser el caso de dar soluciones inmediatas y oportunas ante la posibilidad de resultados adversos durante el desarrollo experimental^{27,28}.

III. RESULTADOS

Tabla 1. Actividad antibacteriana del extracto etanólico de las hojas de *Crescentia cujete L.* a la concentración de 50%, 75% y 100% frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

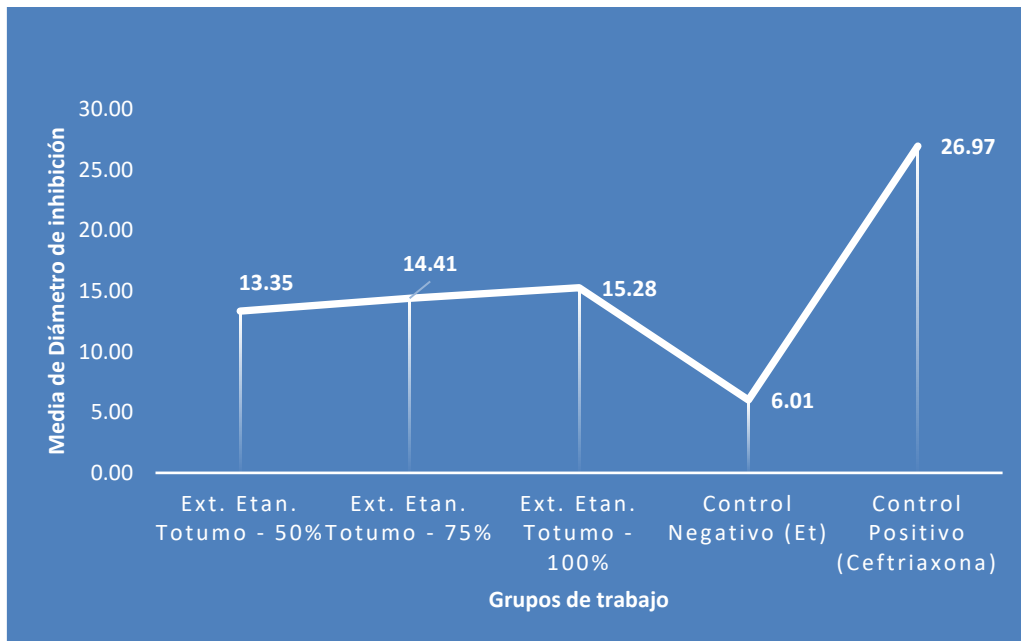
	N	Medi a	Desviaci ón estándar	Error están dar	95% Intervalo de confianza para la media		Mínim o	Máxim o
					Límite Superi or	Límit e Inferi or		
Ext. Etan. Totumo - 50%	1 5	13,35	0,52	0,13	13,06	13,64	12,48	14,18
Ext. Etan. Totumo - 75%	1 5	14,41	0,34	0,09	14,22	14,60	13,65	15,13
Ext. Etan. Totumo - 100%	1 5	15,28	0,45	0,12	15,03	15,53	14,35	16,03
Control Negativo (Et)	1 5	6,01	0,39	0,10	5,80	6,23	5,17	6,53
Control Positivo (Ceftriaxona 100 mg/mL)	1 5	26,97	0,32	0,08	26,79	27,14	26,39	27,40

Fuente: Elaborado por las investigadoras

En la Tabla 1, se muestra los valores medio de halos de inhibición de cada grupo, con respecto al grupo de los extractos etanólicos de las hojas de *Crescentia cujete L.* a la concentración de 50%, 75% y 100% frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 se formaron halos de inhibición de $13,35 \pm 0,52$ mm para la concentración al 50%, de $14,41 \pm 0,34$ mm para el extracto al 75% y de $15,28 \pm 0,45$ mm para el extracto al 100%, con respecto al control negativo se obtuvo un halo de inhibición promedio de $6,01 \pm 0,39$ mm y el control positivo fue de $26,97 \pm 0,32$ mm; así mismo, se muestra la estadística descriptiva para cada grupo de datos en relación a su desviación y error estándar, sus intervalos de confianza al 95% y los valores máximo y mínimo

encontrados.

Figura 1. Actividad antibacteriana del extracto etanólico de las hojas de *Crescentia cujete* L. a la concentración de 50%, 75% y 100% frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923



Fuente: Elaborado por las investigadoras

En la Figura 1, se observa el comportamiento de los grupos experimentales y control en función del tamaño del halo de inhibición obtenido, se muestran un valor mínimo para el control negativo (etanol) de 6,01mm; seguidos por los halos de inhibición de los extractos etanólicos de las hojas de *Crescentia cujete* L. a la concentración de 50%, 75% y 100% con halos de inhibición de 13,35mm; 14,41mm y 15,28mm respectivamente y como valor máximo el obtenido por el control positivo (ceftriaxona 100 mg/mL) con un halo de 26,97mm, mostrando este último el mayor efecto antibacteriano sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Análisis estadístico de la distribución normal y homogeneidad de las varianzas
de los grupos de datos

Tabla 2. Prueba de distribución normal

	Grupos de trabajo	Shapiro-Wilk		
		Estadístico	df	Sig.
Diámetro del halo de inhibición (mm)	Ext. Etan. Totumo - 50%	0,969	15	0,849
	Ext. Etan. Totumo - 75%	0,967	15	0,806
	Ext. Etan. Totumo - 100%	0,947	15	0,472
	Control Negativo (Et)	0,933	15	0,305
	Control Positivo (Ceftriaxona 100 mg/mL)	0,954	15	0,589

Fuente: SPSS ver. 26

En la Tabla 2, se muestra el análisis realizado mediante el software estadístico SPSS ver. 26 para determinar la distribución normal de los grupos de datos recolectados, la prueba seleccionada según las características de los datos fue la prueba de Shapiro-Wilk por la cantidad de datos recolectados en cada grupo, se observa que todos los grupos cumplen con una distribución normal luego de comparar sus valores de significancia, superior al valor alfa de significancia del estudio (0,05).

Tabla 3. Prueba de homogeneidad de varianzas (Levene)

		Estadístico de Levene	df1	df2	p- valor
Diámetro del halo de inhibición	Basado en la media	1,538	4	70	0,201
	Basado en la mediana	1,227	4	70	0,307
	Basado en la mediana con ajuste de df	1,227	4	58,304	0,309
	Basado en la media recortada	1,515	4	70	0,207

Fuente: SPSS ver. 26

En la tabla 3, mediante la prueba de Levene o de homogeneidad de varianzas determinamos el comportamiento homogéneo observado en el desarrollo del estudio en cada grupo de trabajo, del análisis realizado se observa con respecto al valor basado en la media un valor p (0,201); superior al valor de 0,05; por lo tanto, se confirma que los datos recolectados en cada grupo de trabajo presentan homogeneidad de varianzas.

Comparación de la actividad antibacteriana del extracto etanólico de las hojas de *Crescentia cujete* L. con ceftriaxona frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

CONTRASTACIÓN DE LA HIPOTESIS:

H₀: El extracto etanólico de las hojas de *Crescentia cujete* L. (Totumo) no presenta mayor actividad antibacteriana que ceftriaxona frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

H₁: El extracto etanólico de las hojas de *Crescentia cujete* L. (Totumo) presenta mayor actividad antibacteriana que ceftriaxona frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Tabla 4. Análisis de la varianza (ANOVA)

Diámetro del halo de inhibición

	Suma de cuadrados	df	Media al cuadrado	F	p-valor
Entre grupos	3403,861	4	850,965	5064,953	0,000
Dentro de los grupos	11,761	70	0,168		
Total	3415,622	74			

Fuente: SPSS ver. 26

En la tabla 4, mediante la prueba de ANOVA se observó diferencias estadísticamente significativas con respecto al tamaño del halo inhibición promedio de los grupos analizados, mediante la comparación del p-valor (0,00) inferior al valor alfa de 0,05 el cual representa el nivel máximo aceptable por el estudio; por lo que se decide rechazar la hipótesis nula y aceptar la hipótesis alterna que confirma que existen grupos con diferente efecto antibacteriano.

Tabla 5. Análisis por sub grupos homogéneos mediante la prueba de Tukey

Diámetro de Inhibición

HSD Tukey ^a Grupos de trabajo	N	Subconjunto para alfa = 0.05				
		1	2	3	4	5
Control Negativo (Et)	10	6,01				
Ext. Etan. Totumo - 50%	10		13,35			
Ext. Etan. Totumo - 75%	10			14,41		
Ext. Etan. Totumo - 100%	10				15,28	
Control Positivo (Ceftriaxona 100 mg/mL)	10					26,97
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

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

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

Fuente: SPSS ver. 26

En la tabla 5, luego del análisis de la varianza mediante la prueba de ANOVA, se procedió a confirmar las diferencias estadísticamente significativas de los grupos estudiados relacionándolas entre sí, para lo cual se aplicó la prueba de Tukey, el análisis de esta prueba encontró diferencias significativas en todos los grupos de datos, así mismo, no se encontró actividad antibacteriana similar a la ceftriaxona, siendo este último superior a los extractos etanólicos de las hojas de *Crescentia cujete L.*

Decisión: Por lo tanto, se rechaza la H_1 y acepta la hipótesis H_0 que confirma que el extracto etanólico de las hojas de *Crescentia cujete L.* (Totumo) no presenta mayor actividad antibacteriana que ceftriaxona frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Tabla 6. Sensibilidad antibacteriana según la escala de Duraffourd

Tratamiento	Sensibilidad nula ≤ 8 mm	Sensible 8-14 mm	Muy sensible 14-20 mm	Altamente sensible > 20 mm
Control Negativo (Et)	6,01			
Ext. Etan. Totumo - 50%		13,35		
Ext. Etan. Totumo - 75%			14,41	
Ext. Etan. Totumo - 100%			15,28	
Control Positivo (Ceftriaxona 100 mg/mL)				26,97

Fuente: Elaboración propia

En la tabla 6, se representan los halos promedios obtenidos por los grupos de tratamiento y control mediante la escala de Duraffourd, donde se puede apreciar que *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 presenta Sensibilidad Nula al grupo control negativo, es sensible al extracto etanólico de totumo al 50%, es muy sensible al extracto al 75% y 100%; y es altamente sensible al control positivo (ceftriaxona).

IV. DISCUSIÓN

IV.1. Discusión de resultados

La búsqueda de nuevas plantas que presenten metabolitos secundarios con poder antibacteriano es una de las principales preocupación de los investigadores de todo el mundo, debido al incremento de bacterias con alto poder infectivo y resistencia a los antibacterianos comunes, en tal sentido, cualquier aporte en este campo resulta de gran impacto en el futuro, en tal sentido, se consideró la presente investigación sobre una planta poco conocida pero que evidencia propiedades medicinales por otros autores, los resultados del extracto de esta planta frente a una bacteria con altos índices de resistencia se discuten a continuación.

Con respecto al primer objetivo sobre la actividad antibacteriana del extracto etanólico de las hojas de *Crescentia cujete* L. a la concentración de 50%, 75% y 100% frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 se evaluó mediante la técnica de difusión en pozo, comparando el tamaño del halo de inhibición donde se obtuvieron tamaños promedio de $13,35 \pm 0,52$ mm para la concentración al 50%, de $14,41 \pm 0,34$ mm para el extracto al 75% y de $15,28 \pm 0,45$ mm para el extracto al 100%, con respecto al control negativo se obtuvo un halo de inhibición promedio de $6,01 \pm 0,39$ mm y el control positivo fue de $26,97 \pm 0,32$ mm, al respecto un estudio similar realizado por Ridwanuloh et al (2021), al exponer el extracto etanólico del fruto de *Crescentia cujete* L. a *Staphylococcus aureus* obtuvo por medio de la técnica de difusión en pozo halos de inhibición de 17,2mm al 100%, a la concentración del 50% formó un halo de 14,85mm, estos resultados mostraron halos de inhibición superiores a los encontrados en nuestros estudio, los que pudieron variar por la susceptibilidad que presenta el tipo de bacteria por el extracto, la concentración de los metabolitos en la planta y la técnica extractiva empleada en la obtención de los extractos.

Del mismo modo, el estudio realizado por Balogun (2021) enfrentaron el extracto etanólico de *Crescentia cujete* a colonias bacterianas de

Staphylococcus aureus, *Shigella dysenteriae*, *Salmonella paratyphi*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* y *Bacillus cereus* obteniendo halos de inhibición promedio para *Staphylococcus aureus* de 20,06mm, el estudio de Balogun corrobora los resultados obtenidos en nuestro estudio al demostrar la misma actividad antibacteriana comparada con el tamaño del halo de inhibición, la cual a pesar presentar diferencias en el tamaño del halo de inhibición no se muestran en grado variable o diferentes a nuestro resultado, además se puede observar del estudio que la actividad antimicrobiana no solo es contra *Staphylococcus aureus* sino también contra otras bacterias estudiadas.

Por su parte Hasanah, et al (2018), determinaron en su estudio la actividad antibacteriana y la Concentración Mínima Inhibitoria (MIC) del extracto etanólico de cáscara y pulpa del fruto de *Crescentia cujete* contra *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, en el análisis de los resultados se evidenció que los extractos no presentan efecto contra *Escherichia coli* pero si contra *Staphylococcus aureus* a la concentración de 80% y 100%, del mismo modo, se confirman los resultados encontrados en nuestro estudio contra *Staphylococcus aureus*, pero también se puede deducir al no presentar actividad antibacteriana sobre *Escherichia coli* que la actividad antibacteriana que presenta *Crescentia cujete* depende también de la susceptibilidad que presenta el microorganismo empleado en el estudio, del cual puede deberse a las diferentes características morfológicas que presentan estos microorganismos.

Un estudio realizado sobre el extracto de las hojas de *Crescentia cujete* incorporado en una formulación farmacéutica en crema fue el realizado por Nurjanah S. et al (2021), donde de igual forma se demostró el potencial antibacteriano que presenta *Crescentia cujete* contra cepas de *Staphylococcus aureus*, el estudio obtuvo halos de inhibición a una concentración del 15% de $11,52 \pm 0,95$ mm, el presente estudio confirma la actividad antimicrobiana de *Crescentia cujete* contra cepas de *Staphylococcus aureus* pero así mismo, demuestra la actividad de esta planta en una formulación farmacéutica como es la crema, inclusive a

bajas concentraciones, lo que indica que los principios activos presentan estabilidad en esta formulación y pueden ser considerado para el tratamiento a nivel tópico de los extractos de esta planta en beneficio de la salud de la población.

Con respecto a segundo objetivo sobre la comparación de la actividad antibacteriana del extracto etanólico de las hojas de *Crescentia cujete* L. con ceftriaxona 100mg/ml frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 se evaluó el tamaños de los halos de inhibición de los extractos con el grupo control positivo (ceftriaxona) observando que el control positivo presentan mayor actividad antibacteriana que los extractos a diferentes concentraciones de las hojas de *Crescentia cujete* L. esta situación se presenta en la mayoría de los estudios comparativos con productos o medicamentos sintéticos los cuales ya tienen una actividad demostrada sobre microorganismos, sin embargo, el hecho de presentar una comparación con la actividad de un medicamento, demuestra el potencial que presenta una planta en el tratamiento farmacoterapéutico de las enfermedades.

Con respecto al objetivo general, sobre evaluar la actividad antibacteriana del extracto etanólico de las hojas de *Crescentia cujete* L. frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 se demostró mediante los análisis antes mencionados y la comparación con el grupo control negativo que esta planta, si presenta actividad antibacteriana a la bacteria de estudio; la presencia de metabolitos presentes en la planta como saponinas, flavonoides, cardenólidos, taninos y compuestos fenólicos le confieren propiedades antimicrobianas como refiere Ejelonu mediante investigaciones realizadas en esta planta al igual que Nurjanah et al (2021) sobre *Staphylococcus aureus*, por su parte Ridwanuloh (2021) también demostró actividad antibacteriana de esta planta frente a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* encontrando metabolitos secundarios como alcaloides, flavonoides, saponinas y triterpenoides.

Hartati, H, et al. (2017), al investigar sobre la actividad antimicrobiana del extracto etanólico de la hoja L de *Crescentia cujete* contra *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Candida albicans*, empleando

el método de maceración para obtener los extractos con etanol y acetato de etilo, observó que el extracto etanólico de la hoja de *Crescentia cujete* L presentó actividad antimicrobiana, contra las bacterias en estudio, sin embargo, el extracto obtenido con acetato de etilo no presentó dicha actividad, lo que demuestra que el solvente empleado influye en la obtención de los metabolitos y por ende en la capacidad antimicrobiana del extracto de la planta, según el estudio se observa que el etanol sería un solvente de elección para obtener las propiedades medicinales de la planta.

Un estudio que corrobora esta teoría se relaciona con el estudio realizado por Onculada M, Mabasa M (2017) en la India sobre el potencial antimicrobiano del fruto de *Crescentia cujete*, contra infecciones comunes de *Staphylococcus aureus*, y *Escherichia coli*, al aplicar el extracto acuoso de la planta y aplicarlo sobre las cepas en estudio, no mostraron evidencias de presentar efecto antimicrobiano contra las cepas en estudio, razón que estaría relacionada con el tipo de solvente empleado y las características de los principios activos o metabolitos secundarios que presenta *Crescentia cujetea*.

Del mismo modo, el estudio realizado por Ortiz, M. et al (2016) mediante un estudio fitoquímico identificó esteroides, triterpenos, saponinas, taninos, flavonoides, quinonas y cumarinas, a quienes atribuye las propiedades medicinales de la planta *Crescentia cujete*, entre ellas las propiedades antiinflamatorias, cicatrizantes ya antibacterianas.

IV.2. Conclusiones

- Se evaluó la actividad antibacteriana del extracto etanólico de las hojas de *Crescentia cujete* L. frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 mediante el método de difusión en pozo, demostrando actividad antibacteriana.
- Se determinó la actividad antibacteriana del extracto etanólico de las hojas de *Crescentia cujete* L. (Totumo) a la concentración de 50%, 75% y 100% frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923
- Al comparar actividad antibacteriana del extracto etanólico de las hojas de *Crescentia cujete* L. (Totumo) con ceftriaxona frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 se confirmó que posee menor actividad antibacteriana que ceftriaxona.

IV.3. Recomendaciones

- Se recomienda a las futuras investigación desarrollar estudios experimentales in vitro sobre las propiedades medicinales de *Crescentia cujete* L. en diferentes tipos de microorganismos, tanto hongos como bacterias.
- Es necesario realizar estudios de mayor impacto que evidencien el tipo de metabolitos que actúa directamente en las propiedades antimicrobianas de *Crescentia cujete* L por lo que se recomienda a las universidades promover y financiar este tipo de estudios
- Es recomendable el uso de plantas medicinales en el tratamiento de las infecciones por lo que se recomienda a la población iniciar el tratamiento con el uso de plantas medicinales o complementar el tratamiento farmacológico con el uso de estas.
- Es importante que las Universidades Públicas y Privadas motiven a los estudiantes de pre y posgrado en el desarrollo de investigaciones a nivel pre experimental en muestra biológicas con el fin de elaborar un producto farmacéutico ante la presencia de enfermedades infecciosas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Jimenez G, Ramón S, Morejón M. Bacterias multirresistentes en el área de salud de Ibiza y Formentera (ASEF) durante el año 2020. *Revista Sanitaria de Investigación* [Internet]. 2020 [cited 2022 May 12]; Available from: <https://revistasanitariadeinvestigacion.com/bacterias-multirresistentes-en-el-area-de-salud-de-ibiza-y-formentera-asef-durante-el-ano-2020/>
2. Quintero V. La próxima pandemia: Bacterias multirresistentes a antibióticos. *AyTBUAP* [Internet]. 2021;6(21):1–7. Available from: <https://repositorioinstitucional.buap.mx/handle/20.500.12371/11861>
3. Asociación Española de Ciencia Avícola - AECA - WPSA. Resistencia bacteriana, a debate en Europa. 2021.
4. Torres S, Pacheco K. *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina en alimentos. *Revista Vive*. 2021 Dec 13;4(12):457–69.
5. Martínez A., Montes M. et al. Resistencia antimicrobiana del *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina en el Hospital Dr. Gustavo Aldereguía Lima. *MediSur*. 2017;15(2):210–6.
6. Aguilar F, Tene F, Guadalupe J, Moreno M, Failoc V. *Staphylococcus aureus*. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas* [Internet]. 2021;40(4):1–13. Available from: <http://scielo.sld.cu/pdf/ibi/v40n4/1561-3011-ibi-40-04-e895.pdf>
7. Puccio P. *Crescentia cujete* [Internet]. Monaco Nature Encyclopedia. 2018. Available from: <https://www.monaconatureencyclopedia.com/crescentia-cujete-2/?lang=es>
8. Ronaldi Robin, Atmodjo Patricius, Sidharta Boy. Potencial de *Crescentia cujete* L. para la producción de alcohol por fermentación. *Prosiding Seminar Nasional Instiper* [Internet]. 2022 Jul 25 [cited 2022 Nov 30];1(1):306–13. Available from: <https://jurnal.instiperjogja.ac.id/index.php/PRO/article/view/267>
9. Francisco J. *Crescentia cujete* [Internet]. Instituto Nacional de Biodiversidad. 2016. Available from: <http://crbio.cr:8080/neoportal-web/species/Crescentia%20cujete>
10. Ejelonu BC, Lasisi AA, Olaremu AG, Ejelonu OC. The chemical constituents of calabash (*Crescentia cujete*). *Afr J Biotechnol* [Internet]. 2016 Dec

- 26;10(84):19631–6. Available from:
<https://www.ajol.info/index.php/ajb/article/view/99140>
11. Olaniyi M, Lawal I, Olaniyi A. Proximate, phytochemical screening and mineral analysis of *Crescentia cujete* L. leaves. *Journal of Medicinal Plants for Economic Development* [Internet]. 2018 Jan 26;2(1). Available from: <https://journals.co.za/doi/10.4102/jomped.v2i1.28>
 12. Da Silva V, Da Conceicao R, Henrique M, Da Silva R, Do Nascimento J, Magalhaes R. Vista do Aspectos fitoquímicos e potencialidades biológicas da *Crescentia*: uma revisão narrativa. *Revista Electrónica Acervo Saúde*. 2020;12(9).
 13. Sato A, Yamaguchi T, Hamada M, Ono D, Sonoda S, Oshiro T, et al. Morphological and biological characteristics of staphylococcus aureus biofilm formed in the presence of plasma. *Microbial Drug Resistance* [Internet]. 2019 Jun 1 [cited 2022 May 12];25(5):668–76. Available from: <https://www.liebertpub.com/doi/10.1089/mdr.2019.0068>
 14. Balogun F, Sabiu S. A Review of the Phytochemistry, Ethnobotany, Toxicology, and Pharmacological Potentials of *Crescentia cujete* L. (Bignoniaceae). *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* [Internet]. 2021;1(1). Available from: <https://www.hindawi.com/journals/ecam/2021/6683708/>
 15. Lakhundi S, Zhang K. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: Molecular Characterization, Evolution, and Epidemiology [Internet]. Vol. 31, *Clinical microbiology reviews*. NLM (Medline); 2018. Available from: <https://journals.asm.org/doi/epub/10.1128/CMR.00020-18>
 16. Fernández A, García A, Blázquez M. *Staphylococcus aureus* [Internet]. 2018 [cited 2021 Jul 18]. Available from: https://books.google.com.pe/books?id=uPUzDQAAQBAJ&pg=PT4&dq=Staphylococcus+aureus&hl=es-419&sa=X&ved=0ahUKEwi9npzI9cDIAhVDq1kKHZZdA_sQ6AEINjAC#v=onepage&q=Staphylococcus+aureus&f=false
 17. Nurjanah S, Wahyu Tri Mulyani Y, Susanti L, Yusuf M. Cream Formulation Of Extract Of Maja Leaves (*Crescentia cujete*) As An Antimicrobial Against *Staphylococcus aureus* [Internet]. Vol. 7, *Jurnal Biota*. 2021. Available from: <http://jurnal.radenfatah.ac.id/index.php/biota/article/view/7070/4081>

18. Ridwanuloh D, Kurniasih S, Nurohmah R. UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKTRAK ETANOL BUAH BERENUK (*Crescentia cujete* L.) TERHADAP BAKTERI *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* DAN *ESCHERICIA COLI*. PHARMA XPLORE [Internet]. 2021;6(1):60–9. Available from: <https://journal.ubpkarawang.ac.id/index.php/Farmasi/article/view/1450>
19. Balogun F, Sabiu S. A Review of the Phytochemistry, Ethnobotany, Toxicology, and Pharmacological Potentials of *Crescentia cujete* L. (Bignoniaceae). Evidence-based Complementary and Alternative Medicine [Internet]. 2021;2021. Available from: <https://www.hindawi.com/journals/ecam/2021/6683708/>
20. Hasanah U, Widhiastuti H, Syaefudin. Potency of Ethanol Extract from Berenuk (*Crescentia cujete* L.) Fruit Rind and Flesh as Antibacterial Agents. IOP Conf Ser Earth Environ Sci [Internet]. 2018 Nov 19;187(1). Available from: <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1755-1315/187/1/012001/pdf>
21. Ortíz M, Ortíz A, Reyes R, Nieto A, Yoselina L, Correa M, et al. Estudio fitoquímico preliminar del extracto hidroalcohólico de hoja de *Crescentia cujete* L. (Totumo) y evaluación de la actividad antiinflamatoria de un gel para uso tópico. Cien 2016 [Internet]. 2016;13(1):34–9. Available from: <https://www.uniamazonia.edu.co/revistas/index.php/momentos-de-ciencia/article/view/802>
22. Hernández R, Fernández C, Baptista P. Metodología de la Investigación [Internet]. 6ta ed. México, D.F.: Mc Graw Hill; 2014. Available from: https://periodicooficial.jalisco.gob.mx/sites/periodicooficial.jalisco.gob.mx/files/metodologia_de_la_investigacion_-_roberto_hernandez_sampieri.pdf
23. Anonimo. El diseño de investigación experimental [Internet]. 2016. Available from: http://histologia.ugr.es/pdf/Metodologia_III.pdf
24. Guevara G, Verdesoto A, Castro N. Metodologías de investigación educativa (descriptivas, experimentales, participativas, y de investigación-acción). Revista Científica Mundo de la Investigación y el Conocimiento [Internet]. 2020;4(3):163–73. Available from: <https://www.recimundo.com/index.php/es/article/view/860/1363>
25. Vásquez A, Barturen F. Efecto antibacteriano del aceite y extracto etanólico de *Capparis ovalifolia* (Vichayo) frente a *Staphylococcus aureus*. Universidad Privada de Roosevelt; 2021.

26. Alvarez B. EFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Prosopis pallida* SOBRE *Porphyromona gingivalis*. Universidad Central del Ecuador; 2020.
27. Weldefort AA De, Fernández SEC. Manejo de Residuos Peligrosos/Biomédicos en los Laboratorios de Diagnóstico Universitarios. PAHO. 2016;
28. Organización Mundial de la Salud. Buenas prácticas de la OMS para laboratorios de control de calidad de productos farmacéuticos. Red PARF Documento técnico N° 6. 2010;(6):87.

ANEXOS

ANEXO A: Instrumento de recolección de datos

ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS HOJAS DE *Crescentia cujete* L. (TOTUMO) FRENTE A *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Número de placas	GRUPOS EXPERIMENTALES			GRUPOS CONTROL	
	100%	75%	50%	Control negativo (etanol)	Control positivo (Ceftriaxona 100 mg/mL)
Placa N°01	15,36mm	14,26 mm	13,19	6,32 mm	26,57 mm
Placa N°02	16,03 mm	14,34 mm	13,53	5,74 mm	26,69 mm
Placa N°03	15,39 mm	14,56 mm	13,51	5,17 mm	27,40 mm
Placa N°04	15,37 mm	14,24 mm	13,27	6,27 mm	26,90 mm
Placa N°05	15,17 mm	14,18 mm	12,79	5,96 mm	27,39 mm
Placa N°06	15,75 mm	14,51 mm	13,70	6,01 mm	27,13 mm
Placa N°07	14,74 mm	14,44 mm	12,48	5,53 mm	27,38 mm
Placa N°08	15,54 mm	13,65 mm	12,62	6,53 mm	26,87 mm
Placa N°09	15,39 mm	14,71 mm	14,18	5,65 mm	27,27 mm
Placa N°10	14,59 mm	14,39 mm	13,96	6,39 mm	27,00 mm
Placa N°11	15,01 mm	14,37 mm	12,95	5,83 mm	26,74 mm
Placa N°12	15,31 mm	14,81 mm	14,05	5,76 mm	26,39 mm
Placa N°13	15,59 mm	14,08 mm	13,45	6,26 mm	26,67 mm
Placa N°14	15,59 mm	14,40 mm	13,61	6,37 mm	27,14 mm
Placa N°15	14,35 mm	15,13 mm	12,93	6,41 mm	26,97 mm

ANEXO B: Matriz de consistencia

Formulación del problema	Objetivos	Hipótesis
Problema General	Objetivo General	Hipótesis General
¿Presentará actividad antibacteriana el extracto etanólico de las hojas de <i>Crescentia cujete</i> L. (Totumo) frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923?	Demostrar la actividad antibacteriana del extracto etanólico de las hojas de <i>Crescentia cujete</i> L. (Totumo) frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	El extracto etanólico de las hojas de <i>Crescentia cujete</i> L. (Totumo) presentan actividad antibacteriana frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923
Problemas Específicos	Objetivos Específicos	Hipótesis Específicas
¿Cuál será la actividad antibacteriana del extracto etanólico de las hojas de <i>Crescentia cujete</i> L. (Totumo) a la concentración de 50%, 75% y 100% frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923?	Determinar la actividad antibacteriana del extracto etanólico de las hojas de <i>Crescentia cujete</i> L. (Totumo) a la concentración de 50%, 75% y 100% frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	El extracto etanólico de las hojas de <i>Crescentia cujete</i> L. (Totumo) a la concentración de 50%, 75%, 100% presenta actividad antibacteriana frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923
¿Cuál será la actividad antibacteriana comparada del extracto etanólico de las hojas de <i>Crescentia cujete</i> L. (Totumo) a la concentración de 100% con ceftriaxona frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923?	Comparar actividad antibacteriana del extracto etanólico de las hojas de <i>Crescentia cujete</i> L. (Totumo) a la concentración de 100% con ceftriaxona frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	El extracto etanólico de las hojas de <i>Crescentia cujete</i> L. (Totumo) a la concentración de 100% presenta mayor actividad antibacteriana que ceftriaxona frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923

ANEXO C: Operacionalización de las variables

VARIABLES	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	DIMENSIONES	INDICADORES	ESCALA DE MEDICIÓN	Nº DE ÍTEMS	VALOR
Variable independiente: Extracto etanólico de las hojas de <i>Crescentia cujete</i> L. (Totumo)	Producto de consistencia pastosa obtenida de las hojas de la planta y que presenta sustancias activas de la misma.	Producto obtenido por maceración de las hojas de <i>Crescentia cujete</i> L. (Totumo)	Concentración	Porcentaje	Razón	3	100 75 50
Variable dependiente: Actividad antibacteriana frente a <i>Staphylococcus aureus</i> 25923	Inhibición en el crecimiento de <i>Staphylococcus aureus</i> 25923	Medición del halo de inhibición formado en los cultivos de <i>Staphylococcus aureus</i> 25923	Halo de inhibición	Diámetro	Razón	4	≤ 8mm (-) 8mm-14mm (+) > 14 mm-20mm (++) > 20mm : (+++)

ANEXO D: Validación del instrumento

UNIVERSIDAD MARÍA AUXILIADORA
FACULTAD DE CIENCIAS DE SALUD
Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica

FICHA DE EVALUACIÓN

Nombre del Instrumento de evaluación	Autores del Instrumento
Ficha de Recolección de Datos	<ul style="list-style-type: none">Espinoza Olazabal Claris GabySuyon Enríquez de Rodas Mariela Esther
Título de investigación: ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS HOJAS DE <i>Crescentia cujete</i> L. (TUTUMO) FRENTE A <i>staphylococcus aureus</i> ATCC25923	

I. ASPECTOS DE VALIDACIÓN

Después de revisado el instrumento, es valiosa su opinión acerca de lo siguiente:

CRITERIOS	menos de 50	50	60	70	80	90	100
1. ¿En qué porcentaje estima usted que con esta prueba se logrará el objetivo propuesto?	()	()	()	()	(x)	()	()
2. ¿En qué porcentaje considera que los ítems están referidos a los conceptos del tema?	()	()	()	()	()	(x)	()
3. ¿Qué porcentaje de los ítems planteados son suficientes para lograr el objetivo?	()	()	()	()	()	(x)	()
4. ¿En qué porcentaje, los ítems de la prueba son de fácil comprensión?	()	()	()	()	()	(x)	()
5. ¿En qué porcentaje los ítems siguen una secuencia lógica?	()	()	()	()	(x)	()	()
6. ¿En qué porcentaje valora usted que con esta prueba se obtendrán datos similares en otras muestras?	()	()	()	()	(x)	()	()

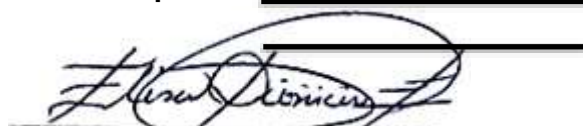
II. SUGERENCIAS

- ¿Qué ítems considera usted que deberían agregarse?
- ¿Qué ítems considera usted que podrían eliminarse?
- ¿Qué ítems considera usted que deberían reformularse o precisarse mejor?

Fecha: 09/10/2022

Validado por: Mg. Elisa Dionicio Escalante

Firma:



UNIVERSIDAD MARÍA AUXILIADORA
FACULTAD DE CIENCIAS DE SALUD
Escuela Profesional de Farmacia y
Bioquímica

FICHA DE VALIDACIÓN

Nombre del Instrumento de evaluación	Autores del Instrumento
Ficha de Recolección de datos	-Espinoza Olazabal, Claris Gaby -Suyon Enríquez de Rodas, Mariela
Título de investigación: ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS HOJAS DE <i>Crescentia cujete</i> L. (TUTUMO) FRENTE A <i>staphylococcus aureus</i> ATCC25923	

I. ASPECTOS DE VALIDACIÓN

Después de revisado el instrumento, es valiosa su opinión acerca de lo siguiente:

CRITERIOS	Menos de 50	50	60	70	80	90	100
1. ¿En qué porcentaje estima usted que con esta prueba se logrará el objetivo propuesto?	()	()	()	()	()	()	✗
2. ¿En qué porcentaje considera que los ítems están referidos a los conceptos del tema?	()	()	()	()	()	()	✗
3. ¿Qué porcentaje de los ítems planteados son suficientes para lograr los objetivos?	()	()	()	()	()	()	✗
4. ¿En qué porcentaje, los ítems de la prueba son de fácil comprensión?	()	()	()	()	()	()	✗
5. ¿En qué porcentaje los ítems siguen una secuencia lógica?	()	()	()	()	()	()	✗
6. ¿En qué porcentaje valora usted que con esta prueba se obtendrán datos similares en otras muestras?	()	()	()	()	()	()	✗

II. SUGERENCIAS

1. ¿Qué ítems considera usted que deberían agregarse? ████████
2. ¿Qué ítems considera usted que podrían eliminarse? ████████
3. ¿Qué ítems considera usted que deberían reformularse o precisarse mejor? ████████

Fecha: 23 de agosto de 2022

Validado por: Dr. Víctor Humberto Chero Pacheco

Firma:



FICHA DE VALIDACIÓN

Nombre del instrumento de evaluación	Autores del instrumento
	Espinoza Olazabal Claris Gaby -Suyon Enríquez de Rodas Mariela Esther
Título de investigación: ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS HOJAS DE <i>Crescentia cujete</i> L. (TUTUMO) FRENTE A <i>staphylococcus aureus</i> ATCC25923	

I. ASPECTOS DE VALIDACIÓN

Después de revisado el instrumento, es valiosa su opinión acerca de lo siguiente:

	Menos de 50	50	60	70	80	90	100
1. ¿En qué porcentaje estima usted que con esta prueba se logrará el objetivo propuesto?	()	()	()	()	()	(X)	()
2. ¿En qué porcentaje considera que los ítems están referidos a los conceptos del tema?	()	()	()	()	()	(X)	()
3. ¿Qué porcentaje de los ítems planteados son suficientes para lograr los objetivos?	()	()	()	()	()	(X)	()
4. ¿En qué porcentaje, los ítems de la prueba son de fácil comprensión?	()	()	()	()	()	(X)	()
5. ¿En qué porcentaje los ítems siguen una secuencia lógica?	()	()	()	()	()	(X)	()
6. ¿En qué porcentaje valora usted que con esta prueba se obtendrán datos similares en otras muestras?	()	()	()	()	()	(X)	()

II. SUGERENCIAS

1. ¿Qué ítems considera usted que deberían agregarse?
 ... Ninguno
2. ¿Qué ítems considera usted que podrían eliminarse?
 Ninguno.....
3. ¿Qué ítems considera usted que deberían reformularse o precisarse mejor?
 Ninguno.....

Fecha: 31 de Julio del 2022
 Validado por: Siancas Tao, Norio

Firma: 

ANEXO E: Carta de presentación de la Universidad



UNIVERSIDAD MARÍA AUXILIADORA

"Año del Fortalecimiento de la Soberanía Nacional"

San Juan de Lurigancho 05 de julio del 2022

CARTA N°132-2022/ EPFYB-UMA

Sr.

JEFE DEL LABORATORIO MICROLIN SRL.

Presente. –

De mi especial consideración:

Es grato dirigirme a usted para saludarlo en nombre propio y de la Universidad María Auxiliadora, a quien represento en mi calidad de Director de la Escuela de Farmacia y Bioquímica.

Sirva la presente para pedir su autorización a que los bachilleres: ESPINOZA OLAZABAL, Claris Gaby, DNI 44062696 y SUYON ENRIQUEZ DE RODAS, Mariela Esther, DNI 16805842 puedan recopilar datos para su proyecto de tesis titulado: **"ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS HOJAS DE *Crescentia cujete* L. (TOMUTO) FRENTE A *Staphylococcus aureus* ATCC 25923"**.

Sin otro particular, hago propicio la ocasión para expresarle los sentimientos de mi más alta consideración y estima.

Atentamente,



Dr. Jhonne Samanego Joaquin
Director de la Escuela Profesional de
Farmacia y Bioquímica



Av. Canto Bello 431, San Juan de Lurigancho
Teléfono 389 1212
www.umaperu.edu.pe

ANEXO F: Carta de aceptación del laboratorio



CARTA DE ACEPTACIÓN

EL QUE SUSCRIBE

Hace constar

Que, **CLARIS GABY ESPINOZA OLAZABAL** y **MARIELA ESTHER SUYON ENRIQUEZ DE RODAS**, bachilleres en Farmacia y Bioquímica han sido aceptados por este laboratorio para realizar la ejecución de su trabajo de investigación titulado “**ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS HOJAS DE *Crescentia cujete* L. (TOTUMO) FRENTE A *Staphylococcus aureus* ATCC 25923**”.

Trujillo, 28 de junio del 2022



Blgo. Liliana E. Niño Barburín
C.B.P. 1807

REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL DE ESTE DOCUMENTO NO ESTA PERMITIDA SIN LA AUTORIZACIÓN PREVIA Y EXPRESA DE MICROCLIN SRL

EL LABORATORIO DE LA REGION

Marcial Acharán N° 587- Urb. Las Quintanas Telef.: 44 208302 Telefax 44 249115 Celular 948051687

Trujillo-Perú

Web: www.microclin.com

e-mail: microclin@microclin.com

ANEXO G: Certificación botánica de la planta en estudio

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

CERTIFICACIÓN BOTÁNICA

El Biólogo colegiado, certifica que la planta conocida como "Totumo" proporcionada por los Bachilleres, **CLARIS GABY ESPINOZA OLAZABAL** y **MARIELA ESTHER SUYON ENRIQUEZ DE RODAS**, Tesis de la Universidad María Auxiliadora, ha sido estudiada científicamente y determinada como ***Crescentia cujete* L.** y de acuerdo al Sistema de Clasificación de Cronquist 1981, se ubica en las siguientes categorías:

Reino: Plantae
División: Magnoliophyta
Clase: Magnoliopsida
Orden: Lamiales
Familia: Bignoniaceae
Género: **Crescentia**
Especie: **Crescentia cujete** L.

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





Lima, 26 junio del 2022


Bigo. Hamilton Beltrán
Hamilton Wilmer Beltrán Santiago
Biólogo - Botánico
C.B.P. 2719

ANEXO H: Certificado de análisis ATCC de la bacteria



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

Specifications Microorganism Name: Staphylococcus aureus subsp. aureus Catalog Number: 0360 Lot Number: 360-407** Reference Number: ATCC® 25923™* Purity: Pure Passage from Reference: 3	Expiration Date: 2023/8/31 Release Information: Quality Control Technologist: Kieshia L Negen Release Date: 2021/9/11
Performance	
Macroscopic Features: Medium to large, convex, entire edge, both white and pale white colonies, opaque, beta hemolytic Microscopic Features: Gram positive cocci occurring singly, in pairs and in irregular clusters	Medium: SBAP smooth, Method: Gram Stain (1)
ID System: MALDI-TOF (1) See attached ID System results document.	Other Features/ Challenges: Results (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  Amanda Kuperus Quality Control Manager AUTHORIZED SIGNATURE
<p>**Disclaimer: The last digit(s) of the lot number appearing on the product label and packing slip are merely a packaging event number. The lot number displayed on this certificate is the actual base lot number.</p> <p>Note for Vitek®: Although the Vitek® panel uses many conventional tests, the unique environment of the card, combined with the short incubation period, may produce results that differ from published results obtained by other methods.</p> <p>⚠ Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information.</p> <p>Individual products are traceable to a recognized culture collection.</p> <div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div data-bbox="252 1456 475 1624">  ACCREDITED <small>REFERENCE MATERIAL PRODUCER CERT #2655.02</small> </div> <div data-bbox="263 1635 422 1691">  </div> <div data-bbox="438 1624 1468 1668"> <small>(*) 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.</small> </div> </div> <div style="display: flex; justify-content: space-between; margin-top: 20px;"> <div data-bbox="252 1713 475 1870">  ACCREDITED <small>TESTING CERT #2655.01</small> </div> <div data-bbox="526 1848 933 1881"> <small>(1) These tests are accredited to ISO/IEC 17025:2005.</small> </div> </div>	

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 the 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.

Sample Name: Staphylococcus aureus subsp. aureus
 Sample Description: 0360
 Sample ID: 360-407
 Sample Creation Date/Time: 2018-09-05T12:23:16.417 MLB
 Applied MSP Library(ies): BDAL, Mycobacteria Library (bead method), Filamentous Fungi Library 1.0, Listeria

Sample Name	Sample ID	Organism (best match)	Score Value
E12 (+++)(A)	360-407	Staphylococcus aureus	2.34

Comments:

N/A

ANEXO I: Fotografías del desarrollo del estudio



Foto 1. Investigadores en la recolección de las muestras



Foto 2. Selección de la muestra



Foto 3. Pulverización y tamizado de las hojas de totumo



Foto 4. Maceración de las hojas de totumo



Foto 5. Filtrado y concentrado del macerado



Foto 6. Preparación del cultivo bacteriano para sembrado en placa



Foto 7. Aplicación de los extractos en placa



Foto 8. Lectura de los halos de inhibición