



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

Actividad antibacteriana *in vitro* del extracto hidroalcohólico de la semilla
y cáscara de *Cydonia oblonga* (Membrillo) frente a cepas de
Propionibacterium acnes

**INFORME FINAL DE TESIS PARA OPTAR AL TÍTULO PROFESIONAL DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO**

PRESENTADO POR:

Bach. GOMEZ MORALES, JORGE HELIO

Bach. HILARIO BALDEON, LUIS MIGUEL

ASESOR:

Mg. Fidel Ernesto Acaro Chuquicaña

**LIMA –PERU
2018**



ACTA DE SUSTENTACIÓN

N° 014-2018-OGYT-FCS-UMA

PARA OPTAR AL TÍTULO DE QUÍMICO FARMACÉUTICO

En San Juan de Lurigancho, a los 27 días del mes de noviembre del año 2018 en los ambientes de la Sala de Audiencias; se reunió el Jurado de Sustentación integrado por:

Presidente : Dr. Jhonnel Samaniego Joaquin.

Integrante : Mg. Rodolfo Huguet Tapia.

Integrante : Mg. Gustavo Adolfo Sandoval Peña.

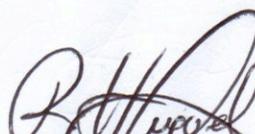
Para evaluar la Tesis:

“Actividad antibacteriana in vitro del extracto hidroalcohólico de la semilla y cáscara de *Cydonia oblonga* (Membrillo) frente a cepas de *Propionibacterium acnes*”; presentada por: Bach. JORGE GOMEZ MORALES. Participando en calidad de asesor: Mg. Fidel Ernesto Acaro Chuquicaña.

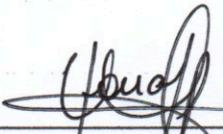
Los señores miembros del Jurado, después de haber atendido la sustentación, evaluar las respuestas a las preguntas formuladas y terminada la réplica; luego de debatir entre sí, reservada y libremente lo declaran..... *Aprobado* (Aprobado/Desaprobado) por..... *Unanimidad* (Unanimidad/Mayoría) con el calificativo de..... *Mención notable* [Mención Sobresaliente(18-20)/ Mención Notable(16-17)/ Aprobado(11-15)/ Desaprobado], equivalente a *16*....., en fe de lo cual firmamos la presente Acta, siendo las *6:30* horas del mismo día, con lo que se dio por terminado el Acto de Sustentación.



Dr. Jhonnel Samaniego Joaquin
Presidente



Mg. Rodolfo Huguet Tapia
Integrante



Mg. Gustavo Adolfo Sandoval Peña
Integrante



ACTA DE SUSTENTACIÓN

N° 013-2018-OGYT-FCS-UMA

PARA OPTAR AL TÍTULO DE QUÍMICO FARMACÉUTICO

En San Juan de Lurigancho, a los 27 días del mes de noviembre del año 2018 en los ambientes de la Sala de Audiencias; se reunió el Jurado de Sustentación integrado por:

Presidente : Dr. Jhonnell Samaniego Joaquin.

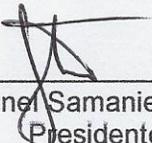
Integrante : Mg. Rodolfo Huguet Tapia.

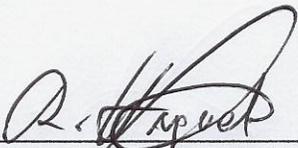
Integrante : Mg. Gustavo Adolfo Sandoval Peña.

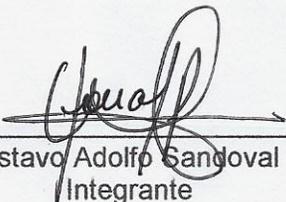
Para evaluar la Tesis:

“Actividad antibacteriana in vitro del extracto hidroalcohólico de la semilla y cáscara de *Cydonia oblonga* (Membrillo) frente a cepas de *Propionibacterium acnes*”; presentada por: Bach. LUIS MIGUEL HILARIO BALDEON. Participando en calidad de asesor: Mg. Fidel Ernesto Acaro Chuquicaña.

Los señores miembros del Jurado, después de haber atendido la sustentación, evaluar las respuestas a las preguntas formuladas y terminada la réplica; luego de debatir entre sí, reservada y libremente lo declaran..... *Aprobado*..... (Aprobado/Desaprobado) por..... *unanimidad*..... (Unanimidad/Mayoría) con el calificativo de..... *Mención notable*..... [Mención Sobresaliente(18-20)/ Mención Notable(16-17)/ Aprobado(11-15)/ Desaprobado], equivalente a ...*16*....., en fe de lo cual firmamos la presente Acta, siendo las ...*6:30*..... horas del mismo día, con lo que se dio por terminado el Acto de Sustentación.


Dr. Jhonnell Samaniego Joaquin
Presidente


Mg. Rodolfo Huguet Tapia
Integrante


Mg. Gustavo Adolfo Sandoval Peña
Integrante

Dedicatoria:

A DIOS todopoderoso, porque está presente en cada paso que doy,
A la virgen de la Asunción que intercede por mí dándome fortaleza, sabiduría, confianza
guiándome por el buen camino en mi continuidad.
A mi esposa e hijos, porque son quienes, a lo largo de este tiempo, depositaron en todo momento
su confianza y por ser motivo de mi inspiración para no desistir y seguir sin dudar ni un sólo
momento de mis sueños y éxitos.
Gómez Morales, Jorge Helio

Dedicatoria:

A Dios todopoderoso, a mis Padres por el apoyo
Incondicional que me ofrecen, por el gran amor
que me brindan, que siempre serán la fortaleza de
Mi vida y motivo para seguir adelante.
Hilario Baldeon, Luis Miguel

AGRADECIMIENTO

Expresamos nuestro sincero agradecimiento muy especial:

A Dios todopoderoso sobre todas las cosas.

A nuestra familia por su comprensión y darnos la oportunidad de llegar hasta aquí.

A los docentes de nuestra alma mater la Universidad María Auxiliadora Escuela Académico Profesional de Farmacia y Bioquímica.

Al Mg. QF. Acaro Chuquicaña, Fidel Ernesto por su apoyo incondicional en la culminación del presente trabajo de investigación.

Al Dr. Q.F Cueva Mestanza, Rubén Eduardo por su orientación y buscar los medios de nuestra capacitación.

Al Mg. La Rosa Sánchez Torres, Rubén Darío por su colaboración en gestionar la muestra biológica.

Al Mg. Chero Pacheco, Víctor Humberto por su ayuda en la parte estadística.

Al Mg. Q.F. Pérez León Camborda, Juan por guiarnos en la parte experimental.

Al Dr. Sandoval Peña, Gustavo Adolfo por guiarnos en la parte experimental.

Lic. Escudero Ayala, Luis por brindarnos la facilidad del laboratorio.

Nuestros más sinceros agradecimientos a todas aquellas personas que colaboraron desinteresadamente de una u otra manera al desarrollo y término de esta tesis.

RESUMEN

El aporte de las plantas medicinales está permitiendo una mejor racionalidad de su uso ante la presencia de nuevos procesos infecciosos, especialmente a nivel sistémico. **Objetivos:** El objetivo fue determinar la actividad antibacteriana *in vitro* del extracto hidroalcohólico de la semilla y cáscara de *Cydonia oblonga* (Membrillo) en diferentes concentraciones del extracto hidroalcohólico (10%, 20% y 40%), además de evaluar sus metabolitos activos. **Metodología:** Se evaluó la concentración en estudio a través del método Kirby Bauer. Para medir el efecto antibacteriano del extracto alcohólico de la muestra vegetal. **Resultados:** Se evidenció efecto antibacteriano en los resultados. Según el análisis de Tukey se evidencia mayores promedios en los halos de inhibición con el extracto hidroalcohólico de la semilla y cáscara de *Cydonia oblonga* (Membrillo) al 20% y 40% pudiendo incluso compararse esta última concentración con los valores de la doxiciclina y tetraciclina. Según los resultados que presenta la interpretación estadística de ANOVA, dado que el valor de la significancia (0) es menor a 0,05. **Conclusiones:** En condiciones experimentales la actividad antibacteriana *in vitro* del extracto hidroalcohólico de la semilla y cáscara de *Cydonia oblonga* (“Membrillo”) frente a cepas de *Propionibacterium acnes* fue mayor a la concentración del 40% en comparación al 10%, 20%, pero una diferencia menor antibacteriana frente al grupo control positivo (doxiciclina y tetraciclina)

Palabras claves: *Cydonia oblonga*, extracto, inhibición, *in vitro*, *Propionibacterium acnes*,

ABSTRACT

The contribution of medicinal plants is allowing a better rationality of their use in the presence of new infectious processes, especially at a systemic level. Objectives: The objective was to determine the *in vitro* antibacterial activity of the hydroalcoholic extract of the seed and shell of *Cydonia oblonga* (Quince) in different concentrations of the hydroalcoholic extract (10%, 20% and 40%), in addition to evaluating its active metabolites. Methodology: The study concentration was evaluated through the Kirby Bauer method. To measure the antibacterial effect of the alcoholic extract of the plant sample. Results: An antibacterial effect was evidenced in the results. According to Tukey's analysis, higher averages of inhibition halos are evidenced with the hydroalcoholic extract of the seed and shell of *Cydonia oblonga* (Quince) at 20% and 40%, this latter concentration can even be compared with the values of doxycycline and tetracycline. According to the results presented by the statistical interpretation of ANOVA, given that the value of significance (α) is less than 0.05 **Conclusions:** In experimental conditions, the *in vitro* antibacterial activity of the hydroalcoholic extract of the seed and shell of *Cydonia oblonga* ("Quince") against strains of *Propionibacterium acnes* was greater than the concentration of 40% compared to 10%, 20%, but a minor antibacterial difference compared to the positive control group (doxycycline and tetracycline)

Keywords: *Cydonia oblonga*, extract, inhibition, *in vitro*, *Propionibacterium acnes*.

INDICE

PORTADA	i
DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTO	iii
RESUMEN	iv
ABSTRACT	v
ÍNDICE	vi
LISTA DE FIGURAS	viii
LISTA DE TABLAS	ix
INTRODUCCION	1
1. EL PROBLEMA DE INVESTIGACION	2
1.1 Planteamiento del problema	2
1.2. Formulación del problema	4
1.2.1. Problema General	4
1.2.2. Problemas Específicos	4
1.3. Objetivos	4
1.3.1. Objetivo General	4
1.3.2. Objetivo Específicos	4
1.4. Justificación	5
2. MARCO TEORICO	6
2.1 Antecedentes	6
2.2 Base teórica	14
2.2.1 <i>Propionibacterium acnes</i>	13
2.2.2 <i>Cydonia oblonga</i>	27
2.3 Definición de términos básicos	34
2.4 Hipótesis	35
2.4.1. Hipótesis general	35
2.4.2. Hipótesis específicos	35
3 METODOLOGÍA	36
3.1 Tipo de investigación	36
3.2 Nivel de investigación	36
3.3 Diseño de la investigación	36
3.4 Área de estudio	37
3.5 Población y muestra	37
3.6 Variables y Operacionalización de variables	38
3.7 Instrumentos de recolección de datos	39
3.8 Validación de los instrumentos de recolección de datos	39

3.9	Procedimiento de recolección de datos.	39
3.10	Componente bioético	46
3.11	Procesamiento y análisis de datos	46
4	RESULTADOS	47
5	DISCUSION	51
6	CONCLUSIONES	54
7	RECOMENDACIONES	55
8	REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	56
9	ANEXO	61
9.1	Matriz de consistencia (Titulo del proyecto, formulación del problema, objetivos, hipótesis y metodología).	61
9.2	Instrumentos de recolección de datos	62

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1 Coloración Gram <i>Propionibacterium acnes</i> .	14
Figura 2 Comedón.	16
Figura 3 Progresión de las lesiones en acné.	17
Figura 4 Patogenia del acné vulgar.	19
Figura 5 Frutos maduros de membrillo.	28
Figura 6 Planta del membrillo.	29
Figura 7 Principales departamentos productores de membrillo para el año 2009.	32
Figura 8 Esquema de obtención del extracto hidroalcohólico de los residuos del membrillo.	40
Figura 9 Flujo de la recolección.	42

LISTA DE TABLAS

	Página
Tabla1 Grado de severidad de lesiones de Acné Inflamatorio	18
Tabla2 Biotipificación de <i>P. acnés</i> , basado en el test de fermentación de azúcares.	20
Tabla3 Relación entre biotipos y serotipos de <i>P. acnés</i> , basado en la detección de galactosa en la pared celular.	20
Tabla 4 Descripción taxonómica del membrillo.	30
Tabla 5 Composición nutricional del membrillo fresco.	31
Tabla 6 Análisis de diferencias de promedios	47
Tabla 7 Resultados del estudio fitoquímico	48
Tabla 8 Análisis de comparación de grupos	49
Tabla 9 Análisis de sub conjuntos de Tukey	50

INTRODUCCION

En el presente estudio de investigación titulada “Actividad antibacteriana *in vitro* del extracto hidroalcohólico de la semilla y cáscara de *Cydonia oblonga* (Membrillo), frente a *Propionibacterium acnes*”, nos permite ubicarnos en el contexto actual de la investigación científica, permitiéndoles la obtención de nuevos conocimientos ante la presencia de un conjunto de afecciones en la población. Por ello realizamos evidencias a partir de una muestra vegetal.

Para un mejor entendimiento de nuestro trabajo, se ha considerado los antecedentes nacionales e internacionales, para fortalecer nuestras evidencias de los productos de la misma familia que presentan actividad antibacteriana, luego hemos desarrollado las bases científicas que son un aporte a las teorías y comentarios de las especies vegetales con propiedades fitofarmacológicas. Se ha aplicado el método experimental en placas microbiológicas, las mismas que cuantificaron nuestros resultados.

Nuestro trabajo de investigación daría un gran aporte a la población que requiere de una alternativa fitoterapéutica a través de las plantas medicinales con propiedades antibacterianas, con una posibilidad emergente en los procesos infecciosos ante la eventualidad de la enfermedad de mayor transmisión.

Esta sección se desarrolló a partir de un problema de salud pública frecuente en la población adolescente, luego de fijarnos en el planteamiento del problema que va en concordancias con los objetivos generales y específicos. Se aplicó la metodología científica para este tipo de diseño experimental en placas bacterianas que luego fueron comparados con el objeto vegetal. También se adicionó para un mejor contexto las tablas, gráficos que aportan evidencia científica a la presente información.

Por lo tanto, el objetivo fue determinar la actividad antibacteriana *in vitro* del extracto hidroalcohólico de la semilla y cáscara de *Cydonia oblonga* (Membrillo) frente a cepas de *Propionibacterium acnes*.

1. EL PROBLEMA DE INVESTIGACION

1.1 Planteamiento del problema

Se le conoce al acné como una inflamación de carácter crónica que involucra las zonas del cuerpo como el cuello, rostro, parte del tronco superior y los hombros. Siendo un problema frecuente de consulta, aqueja principalmente a jóvenes, esto se debe a factores hormonales, genéticos, bacterias y alimenticios. Entre las bacterias más comunes están *Propionibacterium acnes*, *Pityrosporum ovale* y *estafilococos*.

El acné no es una afección que afecta a nivel sistémico, que a su vez causa trastornos psicológicos como la baja autoestima, ansiedad y depresión a partir que deja consecuencias como cicatrices y manchas alrededor de la cara, las presencias de pústulas y pápulas y además que deterioran la belleza facial, por ende, estas causas son los principales objetivos del tratamiento. Se ha encontrado datos de fitoterapia que han comprobado que los productos vegetales tienen efecto para tratar esta enfermedad con distintos niveles de éxito en la cura del acné, se aplica por la zona dérmica u oral. Se realiza esta investigación con el plan de diferenciar las propiedades curativas para tratamiento del acné.¹

La más alta parte de los jóvenes al llegar al tramo de la adolescencia muestran cambios físicos y hormonales, ahí la piel produce más grasa lo que lleva a la aparición de granos también conocidos como el acné. El grado 2, el acné afecta las glándulas sebáceas que se localizan en la epidermis produciendo una sustancia grasosa llamada sebo, este sebo transporta todas las células de la piel muerta hasta su superficie vía los folículos, que es por donde los vellos crecen bajo la piel y a su vez aparecen en la superficie por los folículos, cuando se obstruye un folículo se forma una espinilla negra o blanca, por ende, en la obstrucción se desarrolla una bacteria y causa la hinchazón e inflamación. Existen también otras fuentes como maquillaje grasoso, factores hereditarios y ciertos medicamentos.²

Según estudios de las organizaciones más importantes que pretenden alcanzar el más amplio nivel posible de salud individual y colectiva, como es la Organización Mundial de la Salud (OMS) hace años incorporo el argumento de cronicidad basándose en sus parámetros. Recurrencias o recidivas, brotes agudos, curso prolongado, inicio pausado y una elevada colisión social y psíquica. El tratamiento agresivo y temprano es considerable para reducir las secuelas cicatrízales y la colisión psicosocial. Asimismo, se recomienda de un tratamiento de mantenimiento por las características de recidivas.

En los procesos fisiopatológicos y tratamiento del acné se inicia a partir de las bases moleculares, al mismo tiempo con los descubrimientos de nuevos fármacos las medicaciones se cambian en rasgos definidos de la patología. De acuerdo a las referencias, las investigaciones deben procesarse en una distribución que, facilitando la comunicación e interpretación entre los profesionales de la salud, aportando un lenguaje claro que faculten determinar pasos para localizarse arduamente ante un caso clínico, y así favorezca a la indagación de la patogenia, terapéutica y la epidemiología.³

El acné resulta de diferentes factores que interactúan entre sí. Entre ellos encontramos la sobreproducción de sebo la cual está hormonalmente determinada. Los andrógenos son principalmente las hormonas implicadas. Entre los andrógenos circulantes, se encuentran la dehidroepiandrosterona (DHEA) y la dehidroepiandrosterona sulfato (DHEA-S) y la androstenediona. Estos son débiles prohormonas y debe darse una conversión en búsqueda de su respectiva actividad biológica. En el tema específico del acné, los efectos androgénicos en epidermis, así como en las células papilares dérmicas y proliferación de sebocitos, esto se debe en parte a la transformación de la testosterona en 5 alfa-dihidrotestosterona (5 alfa-DHT) vía la enzima 5 alfa-reductasa.⁴

1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

1.2.1. Problema General

- ¿Tendrá actividad antibacteriana *in vitro* el extracto hidroalcohólico de la semilla y cáscara de *Cydonia oblonga* (Membrillo) frente a cepas de *Propionibacterium acnes*?

1.2.2. Problemas Específicos

- ¿Cuál es el efecto antibacteriano *in vitro* del extracto hidroalcohólico de la semilla y cáscara de *Cydonia oblonga* (Membrillo) a la concentración del 10% frente a cepas de *Propionibacterium acnes*?
- ¿Cuál es el efecto antibacteriano *in vitro* del extracto hidroalcohólico de la semilla y cáscara de *Cydonia oblonga* (Membrillo) a la concentración del 20% frente a cepas de *Propionibacterium acnes*?
- ¿Cuál es el efecto antibacteriano *in vitro* del extracto hidroalcohólico de la semilla y cáscara de *Cydonia oblonga* (Membrillo) a la concentración del 40% frente a cepas de *Propionibacterium acnes*?
- ¿Cuáles son los metabolitos activos con efecto antibacteriano de la semilla y cáscara de *Cydonia oblonga* (Membrillo) frente a cepas de *Propionibacterium acnes*?

1.3. Objetivos:

1.3.1. Objetivo General

- Determinar la actividad antibacteriana *in vitro* del extracto hidroalcohólico de la semilla y cáscara de *Cydonia oblonga* (Membrillo) frente a cepas de *Propionibacterium acnes*.

1.3.2. Objetivo Específicos

- Evaluar el efecto antibacteriano *in vitro* del extracto hidroalcohólico de la semilla y cáscara de *Cydonia oblonga* (Membrillo) a la concentración del 10% frente a cepas de *Propionibacterium acnes*.
- Evaluar el efecto antibacteriano *in vitro* del extracto hidroalcohólico de la semilla y cáscara de *Cydonia oblonga* (Membrillo) a la concentración del 20% frente a cepas de *Propionibacterium acnes*.

- Evaluar el efecto antibacteriano *in vitro* del extracto hidroalcohólico de la semilla y cáscara de *Cydonia oblonga* (Membrillo) a la concentración del 40% frente a cepas de *Propionibacterium acnes*.
- Identificar los metabolitos activos con efecto antibacteriano de la semilla y cáscara de *Cydonia oblonga* (Membrillo) frente a cepas de *Propionibacterium acnes*.

1.4. Justificación

Por lo mencionado por Hipócrates “Que la comida sea tu alimento y el alimento tu medicina”. Hago como referencia mencionar las palabras de las cuales nos motivó a realizar el presente proyecto de investigación que nos permitió conocer de manera experimental, la actividad antibacteriana *in vitro* del extracto hidroalcohólico de la semilla y cáscara del membrillo, tenga efecto antibacteriano ante la aparición cutánea del acné, que es un problema de salud que perjudica en la actividad emocional, la vida social así como la económica que en gran parte afecta a los jóvenes, adolescentes y se sienta disminuido en su autoestima.

Por los autores en mención el estudio tiene importancia teórica debido a que cuenta con propiedades medicinales, por el aporte de sus metabolitos encontrados en el análisis de la marcha fitoquímica, para el desarrollo preventivo de las enfermedades más prevalentes de la piel, mediante un ensayo *in vitro* que ha futuro tendríamos la capacidad de elaborar un producto con los resultados de la base del extracto de la cáscara y semilla del membrillo con la posibilidad de utilizarlo como tratamiento alternativo en fitofarmacología clínica.

Además, existen pocas investigaciones sobre los efectos de la semilla y cáscara de *Cydonia oblonga* (Membrillo) frente a cepas de *Propionibacterium acnes*. Para luego dar importancia social porque al demostrar el efecto antibacteriano de dicho residuo del fruto, éste sería una alternativa de tratamiento facial más económico y accesible a las poblaciones más alejadas en las que acceder a un dermatólogo no es tan inmediato evidenciando que este logro aumentaría la producción nacional e incentivaría a realizar más estudios de investigación, sobre los efectos de recursos naturales disponibles en el país.

2 MARCO TEORICO.

2.1 Antecedentes

2.1.1 Antecedentes nacionales

En el año 2015, Espinoza. M *et al.* Realizó el estudio del “Aprovechamiento de los residuos del “membrillo” (*Cydonia oblonga* L.) Como fuente de compuestos bioactivo” Plantearon el objetivo de evaluar la técnica del secado por aire convectivo (AC) combinado con variables de temperatura y tiempo sobre el contenido de fenoles y flavonoides totales para el aprovechamiento de los residuos agroindustriales del membrillo (*Cydonia oblonga* L. variedad “Serrano”). Fue utilizado un Diseño Compuesto Central Rotable (DCCR) con temperatura entre 50 y 70 °C y tiempo entre 150 y 240 minutos. El método utilizado fue Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) para determinar el contenido de flavonoides totales en los ensayos. Se determinó que el secado por AC produjo una reducción del 35% aproximadamente en contenido de fenoles totales cuando se trabaja con temperaturas de 48 a 58 °C y tiempo de 140 a 220 minutos, con respecto a las muestras frescas. Mientras que, para el contenido de flavonoides totales, los análisis revelaron que las cáscaras de membrillo secadas con tratamientos que combinan temperaturas entre 54 y 64 °C y tiempo entre 160 y 220 minutos, producen un aumento considerable de hasta 5 veces más respecto a la muestra original. La técnica de secado por aire convectivo (AC) puede ser utilizada para darle valor agregado a la recuperación de compuestos bioactivos de residuos agroindustriales tales como las cáscaras del membrillo. Los resultados obtenidos fueron fenoles totales comprobamos que, a una temperatura de 48 a 58 °C y tiempo de 140 a 220 minutos en el secado, la cantidad extraída de este principio activo será mayor. La concentración de los fenoles totales en la cáscara del membrillo fresco fue de $226,36 \pm 5,25$ mg ácido gálico/100 g base húmeda y $1013,72 \pm 23,51$ mg ácido gálico/100 g base seca, al comparar estos resultados con los obtenidos luego del proceso de secado, se aprecia una reducción del 35% respecto al ensayo 5 ($T^{\circ} = 50$ °C, $t = 190$ min) que fue el que más contenido de fenoles totales obtuvo. Los autores concluyeron que los fenoles y flavonoides totales se vieron afectados por las variables de temperatura y tiempo de los 12 tratamientos de secado seleccionados en este estudio. Se halló una reducción del 35% en el contenido de fenoles totales en los tratamientos aplicados a las cáscaras de membrillo (*Cydonia oblonga* L. variedad “Serrano”) con respecto al contenido de las muestras frescas.⁵

En el año 2015, Espinoza. M *et al.* Realizó el estudio del “Impacto térmico del secado por Ventana Refractante TM sobre los metabolitos antioxidantes de la cáscara de “Membrillo” (*Cydonia oblonga L.*)”. Tuvieron el objetivo de investigar el impacto térmico del secado por ventana refractante TM (VR) combinado con variables de temperatura y tiempo sobre el contenido de fenoles y flavonoides totales en cáscaras de membrillo (*Cydonia oblonga L.* variedad “Serrano”). El método de estudio fue el diseño experimental comprendió una metodología de superficie de respuesta utilizando un Diseño Compuesto Central Rotable (DCCR). Los rangos variables empleados fueron de 75-95 °C (temperatura) y 20-60 min (tiempo), así mismo se utilizó una lámina Mylar (polietileno de tereftalato metalizado) como película refractante de 0,1 mm. Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) fue utilizada para determinar el contenido de flavonoides totales en los ensayos. Los resultados fueron una reducción de aproximadamente 13% en el contenido de fenoles totales en los tratamientos aplicados ($T^{\circ} = 74-78^{\circ}C$, $t = 15-25$ min) con respecto al contenido de las muestras frescas. Para el caso de los flavonoides totales, los análisis revelaron que cuando se trabaja con temperaturas entre 74-78 °C y tiempos cortos de 15-25 minutos, producen un aumento (3 veces más) en el contenido de estos metabolitos.

Los autores concluyeron que el secado por VR puede producir una menor reducción en el contenido de fenoles totales y un aumento significativo en el contenido de flavonoides totales en menores tiempos comparados con otros métodos de secado existentes.⁶

En el año 2015, Calderón Parra J realizó el estudio de la “Evaluación de métodos de inactivación enzimática en la obtención de pulpa de membrillo (*Cydonia oblonga*)”. Plantearon el objetivo de evaluar el mejor método de inactivación de enzimas en la obtención de pulpa de membrillo (*Cydonia oblonga*), para lo cual se tuvo cuatro tratamientos de inactivación enzimática: A1 por ebullición, A2 con vapor, A3 con ácido cítrico al 2% y A4 con ácido cítrico y ácido ascórbico al 2%. El método de estudio Se evaluó el mejor tratamiento con un análisis de colorimetría que registra la coloración que se produce por el pardeamiento enzimático, y la actividad enzimática por espectrofotometría midiendo la absorbancia que está relacionada con la concentración de compuestos fenólicos, producidos por enzimas como la peroxidasa, que es la más resistente a escaldados. Los resultados tuvieron como óptimo el tratamiento con vapor a

110°C por 8 min una carga de 250 g.; teniendo los resultados de colorimetría $L = 54.69$; y $dE = 55.07$ una diferencia total, evaluación de peroxidasa $\Delta\text{abs}/\text{min} = 0.0082$, actividad enzimática $U = 0.314$ y $U/g = 10.46$.

Los investigadores llegaron a la conclusión que las características físico-químico y químico la pulpa de membrillo con el mejor tratamiento, el cual fue $\text{pH} = 3.47$, Brix de 12.07 y porcentaje de acidez de 0.88% humedad de 88.40%, proteínas 1%, grasa 0.36%, fibra 1%, ceniza 3.40% y carbohidratos 5.84%.⁷

2.1.2 Antecedentes internacionales

En el año 2015, Matiz.G *et al.* realizó el estudio de la “Actividad antibacteriana in vitro de diecinueve aceites esenciales frente a bacterias asociadas al acné”. El objetivo fue determinar la actividad antibacteriana de 19 aceites esenciales sobre tres cepas asociadas al desarrollo del acné, (*P. acnes*, *Staphylococcus epidermis* y *Staphylococcus aureus*) y seleccionar los más promisorios con base en sus respectivas concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) y su composición química, con el propósito de diseñar formas farmacéuticas de uso tópico para tratamiento antiacné. La metodología que aplicaron fue en replicar en medios de agar y caldos específicos. Se determinó el momento de máxima densidad óptica (DO_{620}) para emplearlo como tiempo de incubación; luego se hicieron pruebas de evaluación de sensibilidad con la exposición de las cepas a concentraciones a 1000 ppm de cada uno de los aceites en caldo. Para solubilizarlos se empleó la mezcla 95:4:1 de caldo: etanol: polisorbato-80. A los aceites que inhibieron el crecimiento en más de un 90 %, se les determinó la concentración mínima inhibitoria mediante metodologías de microdilución en caldo y su composición química por cromatografía de gases acoplada a espectroscopía de masas. Los resultados de los 19 aceites, siete fueron capaces de inhibir el crecimiento en más del 90 % para las tres cepas a 1000 ppm. Las concentraciones mínimas inhibitoria determinadas oscilaron entre 300 y 900 ppm. La composición química de todos los aceites fue consistente con la reportada en la literatura. Finalmente concluyeron que los aceites de tomillo (*Thymus vulgaris L.*), canela (*Cinnamomum verum J. Presl*) y clavo (*Eugenia caryophyllata T.*), en ese orden, alcanzaron las más bajas de concentración mínima inhibitoria; adicionalmente, de acuerdo con la literatura, los componentes más abundantes de los aceites promisorios, tienen

reconocida actividad antiinflamatoria, por tanto, es factible el diseño de formas farmacéuticas tópicas con base en ellos, para el tratamiento del acné.⁸

En el año 2015, Torrenegra. M *et al* realizó el estudio “Actividad antibacteriana *in vitro* de aceites esenciales frente a microorganismos implicados en el acné”. El objetivo fue evaluar la composición química, la sensibilidad antibacteriana y la concentración mínima inhibitoria *in vitro* de tres aceites esenciales de las especies vegetales *Origanum vulgare* L, *Origanum vulgare* ssp y *Lippia alba* Mill cultivadas en el norte del departamento de Bolívar (Colombia), obtenidos mediante hidrodestilación e hidrodestilación asistida por la radiación con microondas. El método de estudio se obtuvo por hidrodestilación e hidrodestilación asistida por radiación con microondas, a partir de las hojas; se determinó densidad relativa a 20 °C, índice de refracción, solubilidad de los aceites esenciales en etanol (70 % v/v) y rotación óptica. La composición química se evaluó mediante cromatografía de gases/espectrómetro de masa (CG/EM). La actividad se realizó sobre tres bacterias implicadas en el desarrollo del acné: *Propionibacterium acnes* ATCC 11827, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228. Para determinar la sensibilidad antibacteriana y la concentración mínima inhibitoria, los aceites se diluyeron hasta la concentración deseada (1 000–50 µg/mL) empleando el método de microdilución en caldo, y se empleó el lector de microplacas para la cuantificación del crecimiento bacteriano. Los resultados que oscilaron los rendimientos fueron entre 0,04 y 0,16 %, dependiendo de la especie vegetal y el método de extracción utilizado. Los resultados de la prueba de sensibilidad mostraron que las bacterias fueron más sensibles al aceite esencial de orégano “borde blanco” (*Origanum vulgare* ssp) obtenido mediante ambos métodos de extracción; además, este aceite presentó el mayor contenido de monoterpenos oxigenados con reconocida actividad antibacteriana, como son el carvacrol y el timol.

Los investigadores concluyeron que el aceite esencial de orégano “borde blanco” (*Origanum vulgare* ssp) es considerado como promisorio para el control del componente bacteriano del acné vulgar.⁹

En el año 2015 Solís Mayorga M, *et al* realizó el “Estudio sobre la susceptibilidad antimicrobiana del *Propionibacterium acnes* y *Staphylococcus epidermidis* en pacientes

con acné vulgaris, atendidos en el servicio de dermatología en el hospital general Enrique Garcés, en el periodo comprendido entre junio y agosto 2015”. Tuvieron el objetivo de Determinar la prevalencia de la susceptibilidad antimicrobiana del *Propionibacterium acnes* y de *Staphylococcus epidermidis* a antibióticos en el tipo de acné vulgaris de severidad leve y moderada con morfología pápulo- pustuloso (AV. LyM.PP) en los pacientes con diagnóstico establecido atendidos en el servicio de Dermatología en el Hospital Enrique Garcés, en el periodo comprendido de enero 2014 a junio 2015. Su método de estudio fue la recolección de los datos relacionados a factores predisponentes de resistencia bacteriana fueron obtenidos de la revisión de historias clínicas, mientras que la muestra se realizó por punción de pápulas o pústulas de pacientes con acné inflamatorio, transportadas en medio Stuart al laboratorio y sembradas en agar Manitol Salado, PEA (feniletilalcohol) y tioglicolato. Posteriormente los crecimientos de colonias en los diferentes medios se identificaron por técnica de MALDI-TOF en busca de las dos bacterias a investigarse: *Propionibacterium acnes* y *Staphylococcus epidermidis*. Adicionalmente, se realizó antibiogramas para estos dos microorganismos con método de Kirby Bauer y equipo VITEK2, respectivamente seleccionando los antibióticos de mayor uso a nivel nacional. Los resultados fueron que 129 pacientes atendidos en el Hospital General Enrique Garcés, sólo el 13.18% (17pacientes) tuvieron una correcta prescripción para el manejo de su acné inflamatorio. Las bacterias aisladas en las lesiones dérmicas de los pacientes acné vulgaris leve y moderado pápulo-pustuloso fueron *Propionibacterium acnes* en 62 muestras (48.6%) y *Staphylococcus epidermidis* en 54 muestras (41.86%), también se demostró la coexistencia de estas dos bacterias en un 42.59% (23 pacientes). A partir de su crecimiento se realizó antibiogramas de *P. acnes* resultando en resistencia a clindamicina en un 37.10%, tetraciclina y minociclina en un 3.23%; mientras que para *S. epidermidis*; eritromicina en el 68.52%, seguida por clindamicina y tetraciclina en el 42.59% y 40.74% respectivamente y la menor resistencia se registró a oxacilina con el 29.63%.

El autor concluyo que el manejo del acné inflamatorio en el Ecuador no está basado en ningún protocolo o guía debido a falta de estudios en el país. Las prevalencias de los principales microorganismos implicados en el acné inflamatorio fueron: *Propionibacterium acnes* en 48.6% y *Staphylococcus epidermidis* en 41.86%; similares a las identificadas alrededor del mundo.¹⁰

En el año 2014, Sharma R *et al* realizó el estudio de las “Actividades antibacterianas, antioxidantes y citotoxicidad de las plantas contra *Propionibacterium acnes*” tuvieron el objetivo de tratar dolencias de la piel tiene un fuerte apoyo en la tendencia actual del descubrimiento de fármacos. *Propionibacterium acnes*, un patógeno anaeróbico, juega un papel importante en la aparición de acné. Se realizó la metodología para evaluar las actividades antimicrobianas y antioxidantes contra *P acnes* y los efectos cito tóxicos de 48 plantas medicinales cultivadas en Sudáfrica. La dilución de caldo y los métodos de eliminación de radicales DPPH se usaron para determinar actividades antibacterianas y antioxidantes, respectivamente. Los resultados fueron los que se determinó la citotoxicidad en melanocitos de ratón (B16-F10). El extracto de corteza etanólica de *Acacia galpinii* Burt & Davy. (Leguminosae) exhibió la concentración inhibitoria mínima más baja de 62.5 µg / mL. La excelente actividad antioxidante fue mostrada por *Aspalathus linearis* (Burm.f.) R.Dahlgren (Leguminosae), *Combretum apiculatum* Sond. (Combretaceae), *Harpephyllum caffrum* Bernh. ex Krauss (Anacardiaceae) y *Sclerocarya birrea* Hochst. (Anacardiaceae), con 50% de actividad de eliminación de radicales (EC 50) en concentraciones que varían de 1.6 µg / mL a 3.5 µg / mL. *Greyia sutherlandii* Hook. & Harv. (Greyiaceae) también mostraron una buena actividad antioxidante con una CE 50 valor de 7,9 ± 0,23 g / ml. *A. linearis*, *G. sutherlandii* y *S. birrea* mostró baja toxicidad con 50% de viabilidad de las células (EC 50) a concentraciones de 125.09 ± 0.71 pg / mL, 107.85 ± 1.53 pg / mL y 92.07 ± 0.09 pg / mL, respectivamente.

Los autores concluyeron que los extractos de *A. linearis*, *G. sutherlandii* y *S. birrea* mostraron buenas actividades antibacterianas y antioxidantes y baja toxicidad. Por lo tanto, estas plantas se pueden considerar como posibles agentes contra el acné y justifican una investigación adicional.¹¹

En el año 2014, Barbosa. V *et al* realizó el estudio de “Evaluación de la actividad antibacteriana de aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* L. y propóleos tintura a la bacteria que causa el acné *Propionibacterium acnes*”. Se determinó el objetivo que el acné es una enfermedad de la piel extremadamente común. Su patogénesis es multifactorial, incluyendo hiperqueratinización folicular, hiperplasia sebácea, hipercolonización bacteriana. El *Propionibacterium acnes* tiene un papel en la respuesta

inflamatoria en la patogénesis del acné. Los antibióticos representan una de las clases de medicamentos utilizados en el tratamiento del acné. Sin embargo, las reacciones adversas causadas por estos fármacos hacen que el tratamiento desagradable, además de los casos reportados de resistencia bacteriana. Por este motivo, el uso de productos naturales ha sido destacado en el área de dermatología. Su método de estudio fue evaluar "in vitro" el posible efecto antimicrobiano de aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* y la tintura de propóleos en la cepa de *Propionibacterium acnes* (ATCC 1969). El aceite esencial fue extraído por la técnica de hidrodestilación y se obtuvo el tinte de propóleo por maceración. El ensayo antimicrobiano fue realizado por la técnica de la dilución en tubos. El aceite fue probado en diferentes concentraciones, variando de 16% a 0,0625% y el tinte del 10% al 0,072312% los resultados fueron los que se observan en el aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* L. Él no mostró actividad antibacteriana frente a cepas de *Propionibacterium acnes*. Los autores llegaron a la conclusión que el tinte de propóleo tuvo acción en varias concentraciones, siendo la concentración inhibitoria mínima del 0,625%.¹²

En el año 2014, Jae-Suk. C *et al* realizó el estudio del “Actividad antibacteriana de los *Phlototannins dieckol* y *Phlorofucofuroeckol-A* de *Ecklonia cava* contra *Propionibacterium acnes*”. El objetivo fue demostrar que el extracto de metanol del alga marrón marina *Ecklonia cava* exhibe actividad antimicrobiana contra *Propionibacterium acnes*. El método de estudio fue identificar los compuestos que confieren esta actividad antimicrobiana, el extracto de metanol se fraccionó usando cromatografía en columna de gel de sílice aumentando la polaridad del disolvente, y las actividades antimicrobianas de cada fracción se determinaron en términos de la concentración inhibidora mínima. Se generaron fracciones de hexano, dietil éter, acetona, acetato de etilo, acetonitrilo, metanol y agua, exhibiendo la fracción de acetona la mayor actividad antibacteriana (concentración inhibidora mínima = 156 µg / ml). La fracción de acetona se purificó adicionalmente mediante cromatografía en columna Sephadex LH-20 y HPLC de fase inversa usando una columna Alltima C18 con un HGradiente lineal 2 O-MeOH de 30 a 100%. Se eluyeron dos picos a 18,1 (P1) y 23,8 (P2) min, y ambos exhibieron una marcada actividad antibacteriana (concentración inhibitoria mínima = 39 µg / ml para ambos). Los resultados de las estructuras de estos compuestos se determinaron sobre la

base de datos de resonancia magnética nuclear de ^1H y ^{13}C y, a través de la comparación con los datos publicados, pueden ser los derivados de floroglucinol dieckol (P1) y florofucofuroeckol-A (P2).

Este estudio concluyó que las florotaninas derivadas de *E. cava* tienen actividad antimicrobiana contra *P. acnes*, por lo que pueden ser útiles como aditivos naturales en cosméticos y productos farmacéuticos contra el acné.¹³

En el año 2013, Silva. F *et al* realizó el estudio de “Conocimiento popular y la actividad antimicrobiana de *Cydonia oblonga* Miller (Rosaceae)”. Tuvieron el objetivo de reconocer los diversos usos del marmolero en San Juan del Paraíso, así como estudiar la actividad antimicrobiana de esta planta. El estudio etnobotánica fue realizado por medio de entrevistas aplicadas a los productores del marmolero. Su método de estudio fueron las pruebas de actividad antimicrobiana se llevaron a cabo utilizando el método de difusión en placa con discos empapados en concentraciones de 100, 200 y 400 mg / ml de la decocción de la fruta y las hojas del extracto crudo *C. oblonga* a prueba en seis bacterias. Los resultados de este estudio etnobotánica reveló que el marmelo utilizado en el combate a la diarrea, vómito e hipertensión, también se utiliza como cicatrizante y antiséptico. Como para el estudio antimicrobiano, sólo el extracto crudo de las hojas inhibe parcialmente el crecimiento de *Streptococcus agalactiae*.

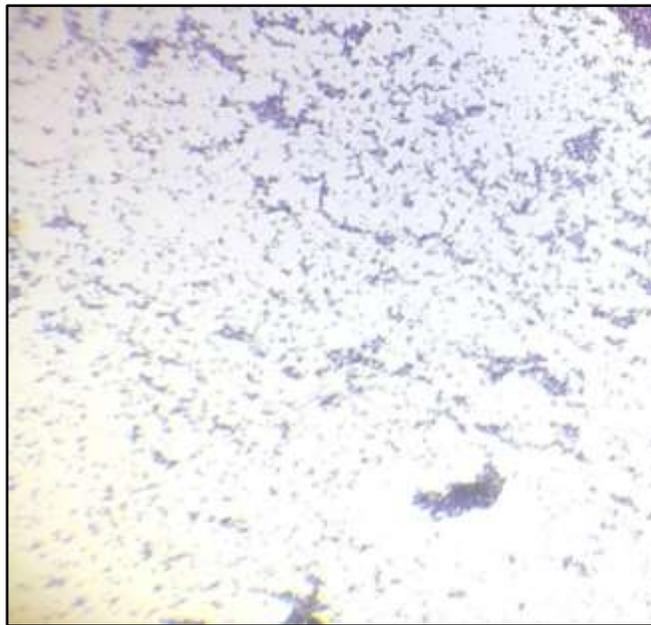
Los autores concluyeron que a través de este trabajo que la decocción de membrillo es utilizada por la gente en la medicina tradicional y extracto crudo de las hojas afectadas por el crecimiento de *S. agalactiae*.¹⁴

2.2 Base teórica

2.2.1 *Propionibacterium acnes*

El género *Propionibacterium* está conformado por bacterias corineformes grampositivas, inmóviles, no esporuladas, que se agrupan en empalizada o “letras chinas”. Las especies más significativas son *P. acnes*, *P. granulosum* y *P. avidum*. Crecen en forma óptima en anaerobiosis a 35° C. Se encuentran en la piel, cavidad oral, tracto gastrointestinal y urogenital. Se distinguen por la creación de propionato y acetato como principales metabolitos de la disminución de la glucosa.¹⁵

Figura 1. Coloración Gram *Propionibacterium acnes*



Fuente: Elaborado por los autores

En la piel, las propionibacterias habitan la superficie de las áreas sebosas y los folículos pilosebáceos contribuyendo a mantener el ecosistema cutáneo saludable al ocupar un nicho que, de otro modo, podría ser colonizado por microorganismos patógenos. *P. acnes* y *P. granulosum* son comúnmente aislados en áreas de la piel ricas en sebo (cabeza, pecho y espalda) con reservorio en el folículo pilosebáceo, mientras que *P. avidum* es localizado principalmente en la axila. Si bien *P. acnes* predomina sobre otros constituyentes de la microbiota normal en el folículo pilosebáceo, coloniza sólo aproximadamente el 20% de ellos. El microorganismo aparece en la pubertad y alcanza aproximadamente 105 U.F.C.

(unidades formadoras de colonias) por folículo. *P. acnes* produce varias enzimas destacando proteasas, hialuronidasa, lipasa, fosfolipasa C, neuraminidasa, fosfatasa ácida, histamina y triptamina, que actuarían como factores de virulencia al promover la lisis celular. El producto de las glándulas sebáceas holocrinas (sebo) se forma de triglicéridos y ácidos grasos. Se ha propuesto que los ácidos grasos libres producidos por la actividad de la lipasa de *P. acnes* sobre el sebo, contribuyen a la multiplicación bacteriana y a la colonización del folículo sebáceo. Los folículos sebáceos pueden dilatarse por factores del hospedero acumulándose corneocitos descamados en forma anormal, dando origen a una lesión denominada comedón que es posteriormente invadido por *P. acnes*. La lipasa de *P. acnes* hidroliza simultáneamente las posiciones α y β de los triglicéridos, produciendo ácidos grasos libres y glicerol. Esta enzima es estable y activa a pH entre 5 y 8; si el pH es menor que 5, la actividad de la lipasa es más débil. Además, la lipasa aislada de cepas de reciente aislamiento muestra una mayor actividad catalítica que aquella obtenida de subcultivos. La actividad de esta lipasa puede ser inhibida por las tetraciclinas, macrólidos y lincosamidas pero no por streptomina, neomicina o penicilina G. La particular composición de la pared celular de las propionibacterias las hace resistentes a la degradación intracelular y además tiene un efecto estimulante hacia el sistema inmune. Con respecto a su efecto inmunoestimulante se describen las siguientes propiedades:

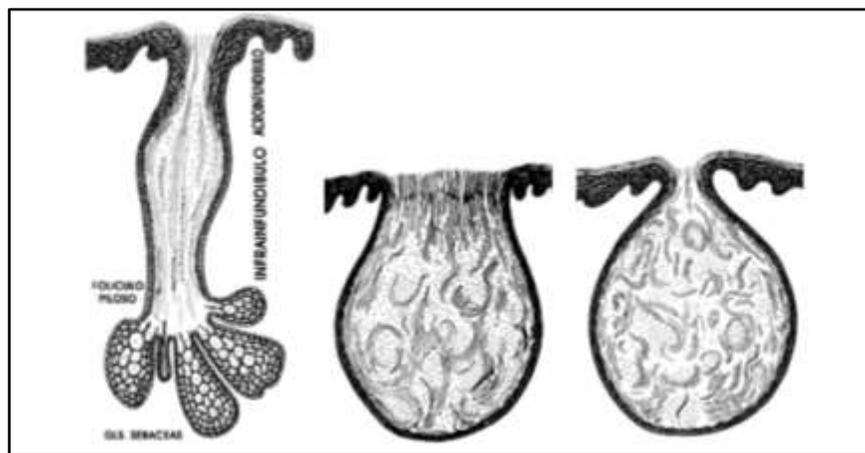
- Activación y proliferación de macrófagos en bazo, pulmones, hígado y nódulos linfáticos.
- Incremento de la habilidad presentadora de antígenos de los macrófagos induciendo una respuesta humoral, tanto de manera dependiente como independiente de linfocitos T, aumentando significativamente los títulos de anticuerpos al ser usado como adyuvante.
- Incremento en la actividad de las células NK (Células Killer).
- Inducción de solución inmune celular, causando la elevación en la fabricación de TNF e INF, incrementando la resistencia antivírica y antibacteriana.
- Actividad antitumoral reduciendo el crecimiento de tumores.

según su intensidad e acné se clasifica en:

- Grado I. Deja secuelas dilataciones foliculares y presencia de comedones pequeños (barrillos o puntos negros).
- Grado II. Hay lesiones pustulosas superficiales y presencia de comedones (barrillos o puntos negros).
- Grado III. Presenta lesiones inflamatorias y pustulosas superficiales más ondas y presencia de comedones). Dejan manchas hiperpigmentadas y cicatrices superficiales eventuales.
- Grado IV. La presencia de cicatrices sugiere la existencia de episodios anteriores de acné grave, y su presencia puede justificar aplicar un tratamiento más agresivo para evitar su aparición en el futuro. Hay lesiones quísticas con una intensa infección secundaria, cicatrización consecutiva y trayectos fistulosos . Asi, antes de instaurar un tratamiento, hay que evaluar las secuelas y el impacto psicológicas del acné.

La comedogénesis, una anomalía en el proceso de descamación de los corneocitos foliculares en los conductos de los folículos sebáceos, es un hecho central en la enfermedad del acné. La comedogénesis comienza con la expansión de los folículos sebáceos como resultado de la acumulación de los corneocitos descamados en una apariencia rara. Se denomina comedogénesis porque se forma un microcomedón, lesión precursora microscópica, clínicamente inaparente. El microcomedón evoluciona hacia una lesión clínicamente aparente, no inflamatoria tales como el comedón abierto o punto negro, o bien, punto blanco o comedón cerrado.¹⁵

Figura 2. Comedón. Izquierda microcomedón, centro comedón abierto, derecha comedón cerrado.



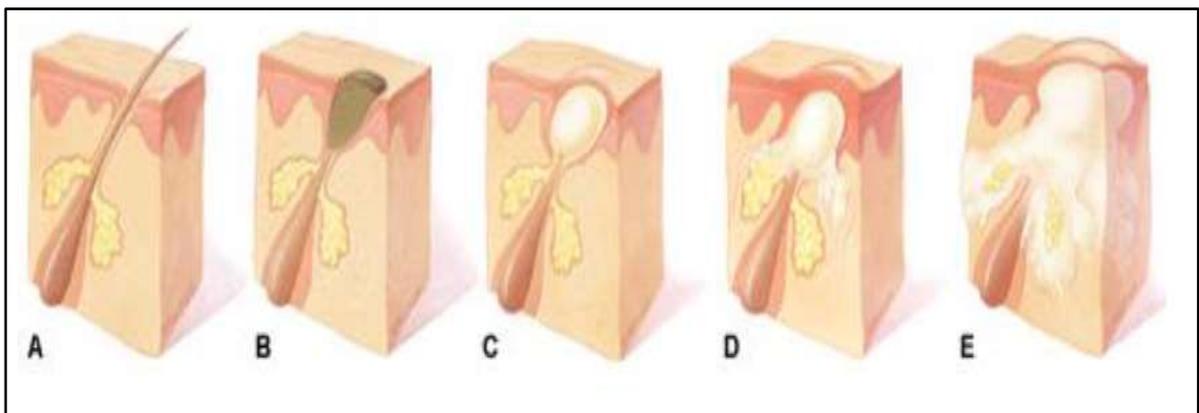
Fuente: James, (1995).¹⁶

Los folículos sebáceos conteniendo microcomedones, proveen un medio anaeróbico rico en lípidos en el cual *Propionibacterium acnes* se multiplica. La proliferación de *Propionibacterium acnes* es el resultado directo o indirecto de la inflamación. Produciendo una lipasa extracelular que hidroliza los triglicéridos de ácidos grasos libres y sebo a glicerol; el glicerol es usado por él, como un sustrato de crecimiento, y los ácidos grasos tienen propiedades proinflamatorias y comedogénicas. *P. acnes* también libera factores quimiotácticos, los cuales atraen neutrófilos al lumen folicular. La ingestión de *P. acnes* por los neutrófilos al interior del folículo, produce la liberación de enzimas hidrolíticas intracelulares, pero no la muerte de la bacteria.

Con la ruptura del epitelio folicular, lípidos sebáceos, pelos, *P. acnes* y células epiteliales cornificadas son vaciados en la dermis, provocando inflamación. Los lípidos, pelos y células cornificadas producen una reacción no inmune, tipo cuerpo extraño asociada primero con células mononucleares y más tarde con macrófagos y células gigantes. *P. acnes* activa la vía clásica y la vía alterna del complemento y se produce un factor quimiotáctico de neutrófilos derivados de C5 (C5 a), mientras que simultáneamente aumenta la liberación de enzimas hidrolíticas desde neutrófilos.

Varias enzimas extracelulares producidas por el *P. acnes*, tales como hialuronidasas y proteasas pueden ser también importantes en la inflamación asociada con el acné. La ruptura folicular y la expansión de la marcha inflamatoria dentro de las profundidades de la dermis resultan en el acné vulgar la formación de lesiones inflamatorias: pústulas, nódulos y pápulas.¹⁵

Figura 3. Progresión de las lesiones en acné. A: folículo normal; B: comedón abierto (punto negro); C: comedón cerrado (punto blanco); D: pápula; E: pústula.



Fuente: Russell, (2000).¹⁷

Tabla 1. Grado de severidad de lesiones de acné inflamatorio

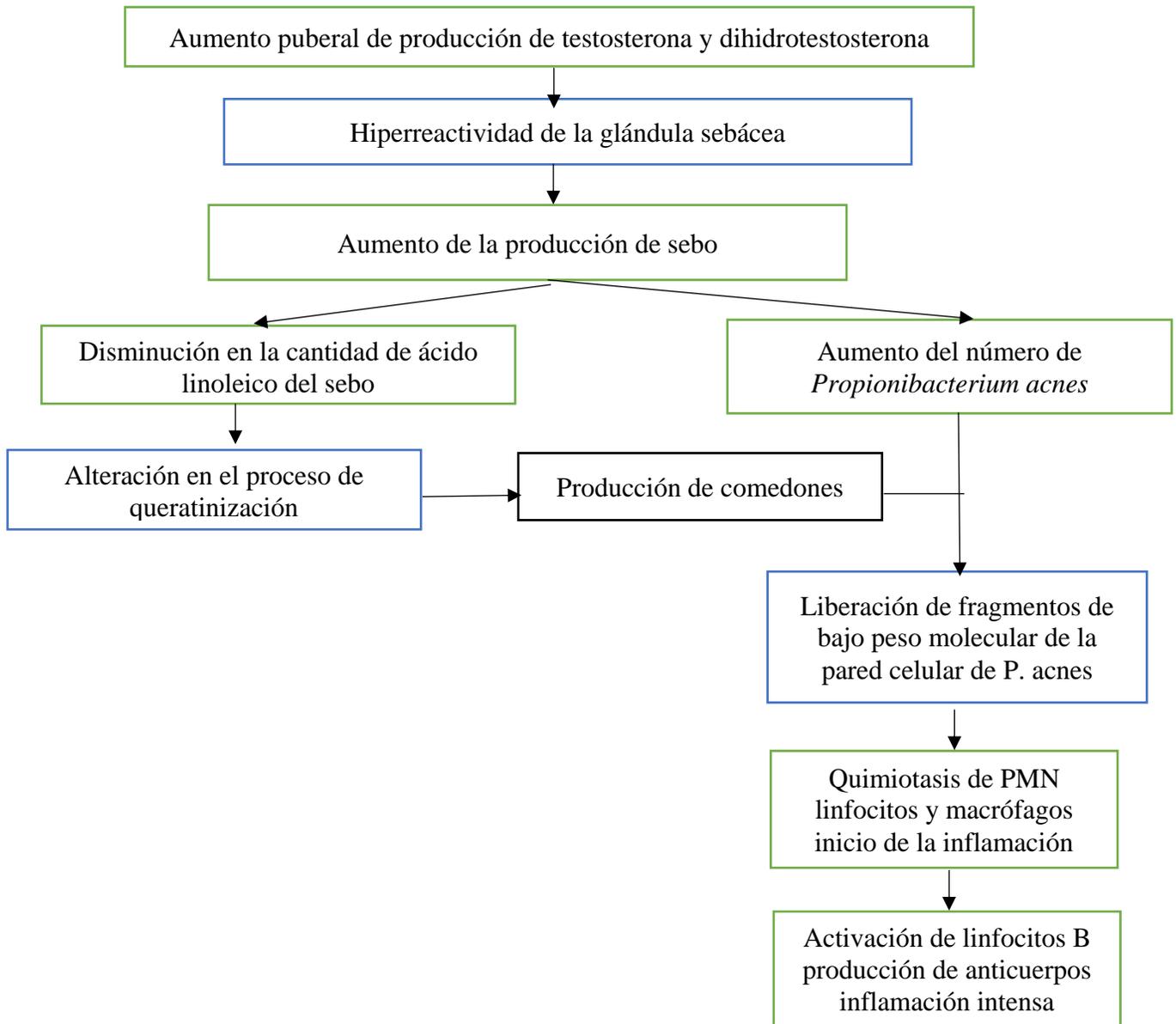
Severidad	Pápulas/pústulas	Nódulos
Leve	Pocas o varias	No
Moderado	Varias a muchas	Pocos a varios
Severo	Numerosas y/o extensas	Muchos

Fuente: Cruz, (2010).¹⁵

Asimismo, los pacientes que padecen con acné presentan una concentración significativamente más baja de ácido linoleico en los lípidos del área de la piel que los individuos sin acné. En otras palabras, a medida que la secreción sebácea aumenta, existe una correspondiente al poco contenido de ácido linoleico de los ésteres de la cera, triglicéridos y ácidos grasos libres de los lípidos superficiales. El papel esencial del ácido linoleico es la mantención de la integridad y función del estrato córneo; y también probablemente del epitelio folicular.

Existe una disminución de las ceramidas lo que conduce a una alteración de la barrera del agua en el estrato córneo. El colesterol también está disminuido, produciendo de esta manera una mayor adhesión de los corneocitos. En personas con acné la secreción sebácea es alta y la concentración de linoleato es consecuentemente baja; por lo tanto, la mezcla de lípidos que rodean el epitelio folicular es deficiente en ácidos grasos esenciales. El escualeno y los ácidos grasos libres tienen propiedades comedogénicas.¹⁵

Figura 4. Patogenia del acné vulgar.



Fuente: Gonzalez-Serva (1996).¹⁸

La tipificación de *P. acnes* puede ser subdividido en 5 biotipos y en 2 serotipos. La división en biotipos (I, II, III, IV o V) está basada en la fermentación de tres azúcares: ribosa, eritritol y sorbitol. La clasificación en serotipos se determina por la identificación de la galactosa en la pared celular de las bacterias. El serotipo I tiene galactosa y el serotipo II carece de ella.

Los biotipos I y II pertenecen a los serotipos I o II de *P. acnes*, mientras que los biotipos III, IV y V pertenecen al serotipo I de *P. acnes* (Tabla 3).

Tabla 2. Biotipificación de *P. acnes*, basado en el test de fermentación de azúcares.

Biotipo	Ribosa	Eritritol	Sorbitol
I	+	+	+
II	+	+	-
III	+	-	+
IV	+	-	-
V	-	-	-

Fuente: Cruz, (2010).¹⁵

Tabla 3. Relación entre biotipos y serotipos de *P. acnes*, basado en la detección de galactosa en la pared celular.

Serotipo I galactosa (+)	Biotipo I
	Biotipo II
	Biotipo III
	Biotipo IV
	Biotipo V
Serotipo II galactosa (-)	Biotipo I
	Biotipo II

Fuente: Cruz, (2010).¹⁵

Estudios que señalan que la efectividad de la lipasa de *Propionibacterium acnes* estaría influenciada por el biotipo de la bacteria. El biotipo III es aislado de lesiones más severas de acné que otros biotipos. También se ha reconocido que un cambio proporcional en la actividad de la lipasa de *P. acnes* se relaciona con un aumento tanto de las colonias de *P. acnes* como del grado de las afecciones de los individuos con acné y además, las más fuertes actividades de lipasa fueron vistas en el biotipo III de *P. acnes*.¹⁵

Susceptibilidad antimicrobiana de *P. acnes*. Como consecuencia de la compleja patogenia, no existe un tratamiento habitual del acné. Se debe tener en cuenta el estadio del acné y el nivel de gravedad, junto con los factores individuales. Los objetivos terapéuticos son las alteraciones de la queratinización y los comedones, la seborrea y la colonización bacteriana del folículo, junto con la inflamación, para lo cual se emplean dos tipos de medicamentos: antimicrobianos y drogas anticomedogénicas. Los antimicrobianos que han demostrado mayor actividad contra *P. acnes* son las tetraciclinas y los macrólidos, tanto por su actividad bactericida como inmunomoduladora. En cuanto a las terapias tópicas, además de sus propiedades bactericidas, el peróxido de benzoilo muestra una marcada actividad queratolítica y promueve el recambio de las células epiteliales por lo que es, desde hace varios años, uno de los fármacos más usados para controlar el acné. El uso de antibióticos comunes es efectivo para tratar el acné vulgar inflamatorio; clindamicina y eritromicina son los agentes más comúnmente usados. En el tratamiento sistémico, los antibióticos más usados son las tetraciclinas y la eritromicina. Tienen una acción antiinflamatoria, disminuyen el contenido de ácidos grasos libres del sebo, mediante la inhibición de la formación de la lipasa de *P. acnes* o bien por sus efectos bacteriostáticos.

Lincomicina y clindamicina también podrían inhibir la lipasa de *P. acnes* con pequeños efectos sobre su crecimiento. Resistencia antimicrobiana de *P. acnes*. En los últimos 20 años ha habido un aumento significativo en la resistencia antimicrobiana de cepas de *P. acnes*, incrementando desde 20% en 1978 a 62% en 1996. La resistencia ha afectado especialmente a clindamicina, eritromicina, doxiciclina, tetraciclina y trimetoprim; aunque la resistencia a minociclina es menor. Un estudio europeo sobre la susceptibilidad a antibióticos de *P. acnes* encontró 2,6% de cepas resistentes a tetraciclina, 15,1% a clindamicina y 17,1% a eritromicina, no observando resistencia a linezolid, benzylpenicilina o vancomicina.¹⁵

Estos últimos antimicrobianos son activos contra *P. acnes*, pero su uso está indicado en infecciones severas post quirúrgicas o septicemias, en casos de alergia a otros antibióticos, o en casos de resistencia a otros antimicrobianos. Además, linezolid y vancomicina son de administración parenteral. Las cepas de *P. acnes* persistentes a eritromicina han sido

clasificadas en cuatro categorías fenotípicas basándose en sus pasos de persistencia a los lincosamidas, macrólidos y estreptogramina B (MLSB). El mecanismo más frecuente de resistencia son las mutaciones en distintos sitios del gen que codifica la región peptidil transferasa del dominio V de la subunidad 23S del ARNr. Una transición 2058 A-G, determinó la emergencia de cepas fuertemente persistentes a eritromicina y resistencia variable a otros macrólidos y clindamicina (fenotipo I), mientras que la transición 2057 G-A está asociada con un bajo nivel de persistencia a eritromicina (fenotipo III). Por su parte, la transición 2059 A-G está agrupada con un elevado nivel de persistencia a todos los macrólidos y elevada pero variable persistencia a clindamicina (fenotipo IV). Respecto a la resistencia a tetraciclinas de *P. acnés* se ha determinado que la transición G-C, equivalente a la base 1058 de *Escherichia coli*, en la subunidad 16S del ARNr, es responsable de la resistencia clínica a este antimicrobiano.¹⁵

A veces persisten hasta los 25 años y más, obligando a buscar causas hormonales, vitaminas (complejo B) o la ingesta de halógenos u otros medicamentos, entre ellos corticosteroides, antidepresivos, anticonvulsivos, antivirales, antipsicóticos, litio, isoniazida, ciclosporina y azatioprina.

- El acné conglobata. Las lesiones afectan en el cuello, cara y están muy esparcidas en el tronco, donde son más ondas; predominio de grandes quistes, hay comedones dobles, abscesos y nódulos. Es un organismo crónico que puede permanecer incluso entre los 40 a 50 años.
- La variedad queiloidea. Muestra cicatrices queloides o hipertróficas; afectando la región esternal con mayor frecuencia.
- El acné fulminans. Es una causa desconocida de una variedad de ulcerosas raras, casi exclusivas en varones con antecedentes de acné presentando una exacerbación fulminante; en tronco y cara presenta lesiones costrosas u ulceradas sobre lesiones del nódulo quístico. En el medio de los individuos tratados hay artralgias y mialgias, con disminución de peso y fiebre, leucocitosis, anemia y una elevación de la sedimentación eritrocítica; con alopecia, sinovitis, enfermedad de Crohn y eritema nudoso.

- Acné inverso. Se determina por la tétada o tríada de oclusión folicular: acné conglobata, axilar y hidradenitis supurativa perineoglúte, Folliculitis disecante de quiste y piel cabelluda.
- Acné neonatal e infantil. Es común en hombres; también se observa en los recién nacidos y aparece durante los primeros días del nacimiento. Relacionándose con la glándula suprarrenal fetal exageradamente grande, que desarrolla una gran cantidad de dehidroepiandrosterona (DHEA). Se observan pápulas, comedones cerrados y pústulas en la frente, mejillas y la nariz. Aún se desconoce el motivo del acné infantil; aparece entre los tres a seis meses de edad y es eliminado durante los tres y cuatro años de edad.
- Acné androgénico. Es resultado de la productividad masiva de andrógenos por alteraciones endocrinas y ovarios poliquísticos (síndrome de Stein-Leventhal), como el síndrome de Cushing; normalmente se representa por el síndrome SAHA).
- Acné excoriado de las jóvenes. inducido por neurosis y característico de las mujeres. Hay unos cuantas pápulas y comedones que al ser manipulados dejan costras, cicatrices y excoriaciones. Dermatitis acneiformes. Ocurre por contacto directo, y recibe el nombre de los siguientes productos: acné por detergente, pomada, estival, mecanico, por cremas y fotoprotectores, acné cosmético.

a) Diagnóstico.

El diagnóstico del acné en la adolescencia en general es fácil, las lesiones presentes son comedones abiertos o cerrados, pústulas, nódulos, pápulas y en los casos más severos abscesos y fístulas localizados en la cara, espalda y pecho. Suele acompañarse de seborrea. Su tratamiento empieza con anamnesis previa, su efectividad, cambios en las lesiones, su duración, sus productos y medicamentos químicos y la aceptación que tenga en los adolescentes. En la evaluación del acné, se observa cuatro puntos básicos: gravedad, extensión, factores asociados y tipo de lesión.¹⁹

b) Diagnóstico diferencial.

Usualmente el acné no presenta dificultad diagnóstica. No obstante, algunas veces, en otros casos clínicos genera dificultades de diferentes afecciones, algunas más comunes en la vida cotidiana. Suelen presentarse así:

- **Rosácea.** Se observa con más frecuencia en pacientes de la segunda y tercera edad, muestra piel clara, con más incidencia en las mujeres. Usualmente, no hay comedones. Es una inflamación centro facial con el desarrollo paralelo de telangiectasias, pápulas y pústulas, prosiguiendo un proceso de desarrollo crónico, en el que relevan tiempos de complicación e indicación. Se observa un edema que persiste, especialmente en el entrecejo y las mejillas casualmente producido por una malformación subyacente de los linfáticos. También se muestra como un componente ocular que conforma manifestaciones mayores y menores. Prevalece poco en las mujeres a diferencia que en los hombres que presentan un elevado índice de dichas afecciones, en las etapas finales de la patología se forma un rinoforma.
- **Dermatitis seborreica.** Se observan inflamaciones en la zona del pecho, las axilas, espalda, ingle y en el cabello. Se ven lesiones eritematoso escamosas, algunas pápulas en la frente y en los pliegues naso labiales. Es normal el hallazgo de *P. ovale*. No hay comedones. Sicosis de la barba es una patología poco frecuente, se observa en afrocaribeños. Una de sus características es la aparición de pústulas y pápulas de en el área de la barbilla, con tendencia a que sea crónico, pocas veces dejan cicatrices hipertróficas.¹⁹
- **Elastoidosis de comedones y quistes.** Se localizan en las regiones de la cara expuesta por el sol. Es un similar de la "elastoidosis actínica senil". ataca preferentemente a adultos varones. Hay aparición de comedones abiertos, se forman grupos, junto con pequeños quistes. la afección se produce por las altas elastasas solar de esos lugares.
- **Quistes de millium.** Se muestran pequeñas lesiones blanquecinas, principalmente en el área infraorbital y los párpados. La milia no crece hacia lesiones inflamatorias. los comedones cerrados, que comúnmente son confundidos, no

acompañan a los fenómenos inflamatorios, salvo en el suceso de que sean controlados.

c) Tratamiento.

Entre los principales lineamientos que deben tenerse en cuenta al tratar un paciente con acné incluyen:

- Armónica relación médico-paciente.
- Conocimientos de los factores etiopatogénicos involucrados.
- Clasificación clínica correcta

d) Medidas generales.

- Lavado diario con agua tibia y jabón de preferencia neutro, tres veces al día.
- Evitar inflamación y traumatismo, ya que podrían dañar los comedones existentes y generar un acné inflamatorio.
- Usualmente hay que prohibir la utilización de los siguientes productos: lanolina, vaselina, etc.
- Evitar la exposición tópica-crónica de productos industriales que contienen aceites insolubles, hidrocarburos, halogenados y alquitrán.
- No apretar los granos inmaduros ya que pueden provocarse lesiones cicatrízales permanentes

e) Tratamiento tópico del acné.

El acné puede ser tratado de diferentes formas, también son tratadas como monoterapia o en combinación de uno o más medicamentos, de acuerdo a la prolongación y el acuerdo de la persona que padece acné. Para la administración tópica de los medicamentos se ven usualmente antimicrobianos y retinoides.

f) Terapia ambulatoria.

Con respecto a esta terapia piedra angular del manejo racional del acné, preconizamos el uso de terapia combinada a la búsqueda del sinergismo terapéutico.

g) Tratamiento sistémico para el acné.

Antibióticos.

- **Ciclinas:** Son antibióticos de primera elección que deben usarse para el tratamiento del acné pápulo pustuloso extenso y moderado. Existen tetraciclinas de las dos primeras generaciones. En el primer grupo vemos la doxiciclina, tetraciclinas HCL, minociclina y las oxitetraciclinas. En pocas palabras, tanto la minociclina, doxiciclina y la limeciclina, ofrecen bienestar para su dosis debido que su administración es de una dosis al día y eso evita los efectos adversos.
- **Doxiciclina:** Su forma de atacar a la bacteria es reduciendo la densidad de lipasa de *P. acnes* y disminuyendo los niveles de ácidos grasos en el folículo. Controla, la solución inflamatoria del paciente, mediante la inhibición de varias citocinas y proteinasas, incluyendo la MMP-13, MMP-8, la interleucina 1 β , la MMP-9 y el FNT- α .

Dosis: La doxiciclina de 100 mg al día es recomendada una vez al día ya que su elevada liposolubilidad favorece a la unidad pilo-sebácea en la biodisponibilidad.

Efectos Secundarios: Se reportaron algunas reacciones con dosis de 100 mg al día. La administración después de comida y agua, reduce los efectos gastrointestinales no deseables. Los efectos no deseables más recalcados de la doxiciclina son los desórdenes gastrointestinales, principalmente la esofagitis erosiva que genera al ingerir la dosis con el estómago limpio y sin agua, principalmente en los horarios nocturnos. Los datos sobre fotosensibilidad se han agrupado al uso de doxiciclina y residen en eritema posinflamatorio y foto-onicólisis, hiperpigmentación; dependiendo de las dosis, el tipo de epidermis y la magnitud de la luz ultravioleta.

- **Minociclina:** es un fármaco de mayor efectividad para el acné. Tiene un buen grado de efectividad en el acné vulgar moderado, no es recomendable como primera alternativa de tratamiento por el peligro de efectos adversos graves.

Dosis: la dosis según farmacopea es de 100 mg, pero las indicaciones terapéuticas pueden variar, pero en algunos casos se les suben a 200 mg al día, si fuera necesario. La minociclina tiene las siguientes presentaciones que son:

- Liberación retardada: 1 mg/kg al día.
- Liberación inmediata: 50 a 100 mg, una o dos veces al día.

Efectos secundarios: Produce importantes efectos adversos que no son comunes, pero debido a su cronicidad deben ser tomados en cuenta a la hora de brindar el diagnóstico. Entre ellos está: el síndrome de tipo lupus, más frecuente que con las otras tetraciclinas que aumenta, al igual que la pigmentación, con la dosis excesiva; artritis, hepatitis auto inmunitaria, poliarteritis nudosa y tiroiditis; fotosensibilidad, foto-onicólisis, los dientes toman una coloración y el síndrome de Stevens-Johnson.¹⁹

2.2.2 *Cydonia oblonga* (Membrillo)

El membrillero es originario de Persia y el Mar Caspio, siendo cultivado desde la antigüedad 4.000 a.C. en Babilonia. El nombre científico proviene de la ciudad de Cydon en Creta; los griegos dedicaban este fruto a Venus ofreciéndolo como símbolo de fertilidad, amor y fecundidad. Los Romanos continuaron con la misma creencia y difundieron la costumbre de comer un membrillo entre los recién casados para buena fortuna. Los árabes por su parte lo consumían de manera medicinal como laxante. Los europeos aprecian esta fruta siempre y cuando se encuentre cocinada con azúcar. En Norteamérica no es muy conocida ya que sus cultivos no se reproducen por los calores del verano. En Latinoamérica los cultivos de membrillo se dieron en favorables condiciones y Argentina es el mayor productor de la zona. En la actualidad el membrillo es muy utilizado como árbol ornamental.²⁰

Figura 5. Frutos maduros de membrillo



Fuente: Elaborado por los autores

Características organolépticas y nutricionales

La característica de los membrillos dependerá de la variación a la que pertenezca, por ejemplo: existen dos grupos, el primero de frutos en forma redondeada (manzana-membrillo) y la segunda que es de frutos alargados (pera-membrillo).

- Membrillo de Angers: fruto grueso, grande y resistente
- Membrillo de Fontenay: fruto grande pero no más que el anterior, piel amarilla verdosa y pulpa perfumada.
- Membrillo de Portugal: frutos grandes, piel amarillo oro, fragante.
- Membrillo de vrania: originario de Serbia, fruto grande de forma regular.
- Membrillo naranja: originario de América, fruto grande y muy aromático.²⁰

Características generales:

- Forma: Tiene forma muy parecida a la pera, en casi todos los casos, pero también existen en formas ovaladas. Tamaño y peso: hay una longitud de hasta 7,5cm y el diámetro rodea desde los 85 a 95 milímetros. Su peso esta entre 200 a 250 gramos.⁷

a) Taxonomía

En la tabla 4. Descripción taxonómica del membrillo.

Figura 6. Planta del membrillo



Fuente: Recolectado por los autores

Tabla 4. Descripción taxonómica del membrillo.

Reino	Plantae
Subreino	Tracheobionta
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliophyta
Subclase	Rosidae
Orden	Rosales
Familia	Rosaceae
Subfamilia	Spiraeoideae
Genero	<i>Cydonia</i>
Especie	<i>C.oblonga</i>

Fuente: Casaca, (2005).²²

b) Composición química

El membrillo posee un volumen alto de agua. El agua abarca en solución a otras sustancias como taninos, azúcares, sales minerales, pigmentos, ácidos. El porcentaje medio de agua oscila entre 80 a 86 %, varía según el proceso de desarrollo.

Principalmente se consideran los membrillos una buena fuente de fibra y pueden administrar cantidades eficientes de fósforo en la dieta diaria. De los azúcares reductores, en mayores componentes la fructosa, constituyendo el 80% del total de los azúcares presentes en el membrillo.⁷

Tabla 5. Composición nutricional del membrillo fresco
(Composición en 100 g de alimento.)

Constituyente	Fruto fresco
Agua (g)	86,9
Proteína (g)	0,30
Grasa total (g)	0,10
Carbohidratos (g)	11,5
Fibra cruda (g)	1,30
Fibra dietética (g)	1,90
Cenizas (g)	1,20
Calcio (mg)	9,00
Fósforo (mg)	29,0
Zinc (mg)	0,04
Hierro (mg)	0,70
Vitamina A (µg)	2,00
Riboflavina (mg)	0,07
Niacina (mg)	0,23
Vitamina C (mg)	12,5

Fuente: MINSA, Instituto Nacional de Salud (2009).²³

c) Usos e industrialización

El membrillo es astringente, agrio y duro, no es recomendado consumirlo crudo, primero tiene que ser azucarado. Es utilizado para realizar mermelada, jalea, pudín y compota, o puede cortarse para luego asarlo. Su agradable sabor hace que sea un suplemento para agregar en mínimas proporciones al pastel y a la mermelada de manzana, para mejorar el sabor.

En la repostería tradicional el dulce de membrillo es de primera importancia, así como en algunos países de Latinoamérica. En Europa, se suavizan el gusto hundiéndolo antes en agua de mar, haciendo que este resulte más factible al consumidor.⁷

Variedades

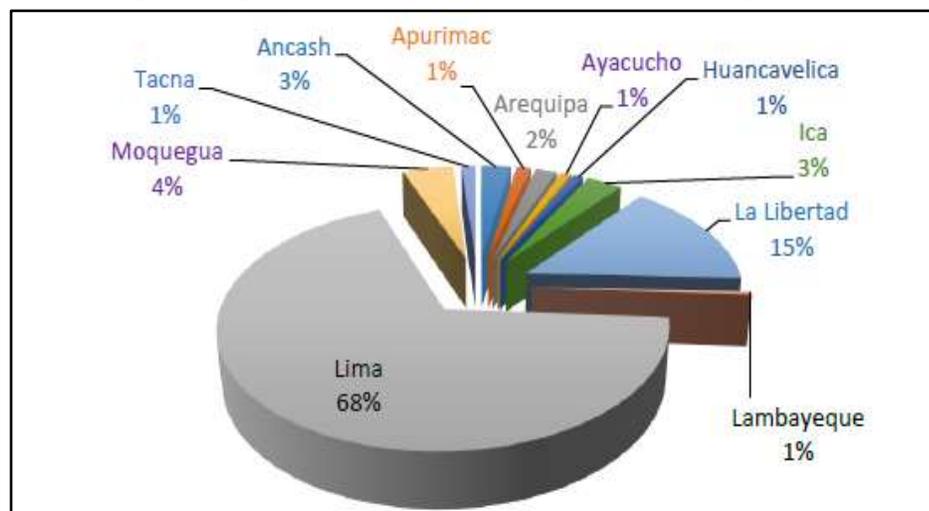
Distinguen tres variedades:

- *Cydonia vulgaris maliformis*: Membrillo en forma de manzana, es casi globoso.
- *Cydonia vulgaris lusitánica*: Conocido como ‘‘Membrillo Potugal’’, tiene más amplias hojas que las otras variedades, además el fruto es más grande.
- *Cydonia vulgaris oblonga*: Membrillo en forma de pera, tiene hojas oblongas y ovales, y se encuentran por las zonas silvestres.

d) Producción y comercio

A continuación, se detalla en la tabla 4, la producción de membrillo entre los años 2006 a 2009 a nivel nacional, y en la figura 2 se puede apreciar que es en el departamento de Lima donde hay una mayor producción, seguido de La Libertad.⁷

Figura 7. Principales departamentos productores de membrillo para el año 2009



Fuente: INEI-(2010).²⁴

e) Productos producidos por el membrillo

- Pasta de membrillo: Es un postre de color ámbar con un rico gusto a fruta, su técnica fue utilizada para conservar el membrillo más tiempo.
- Jalea de membrillo: Elaborado a base del zumo de la fruta hervida, se le adiciona azúcar y se reposa hasta la obtención de una mezcla consistente.
- Mermelada de membrillo: Obtenida por la extracción del jugo al que se adiciona azúcar o edulcorante hasta la obtención de una consistencia pastosa.
- Dulce de membrillo: obtenido por la ebullición de la pasta a la que se le adiciona azúcar o endulzantes hasta llegar a obtención de una mezcla que luego de enfriarse tendrá una solidez dura.²¹

2.3 Definición de términos básicos

- **Antibacteriano:** Sirve para combatir las infecciones causadas por bacterias.²⁵
- **Antiflogístico:** Fármaco que contrarresta la inflamación y la fiebre.²⁴
- **Agar Sangre:** El agar sangre es una combinación de un agar base (agar nutritivo) con el agregado de 5 % de sangre ovina, también puede usarse sangre humana, para cultivos en una placa de Agar.²⁵
- **Bacteria:** División del reino procaryotae, que engloba todos los microorganismos procariontes excepto las algas verde – azuladas.²⁵
- **Bactericida:** Que destruye bacterias.²⁵
- **Cepas:** Es una población de células homogéneas, o clones, que deriva de la imitación de una célula inicial única, aislada y seleccionada. También se refiere de colonias puras de bacterias a las cepas.²⁵
- **Cultivo:** Es un método para la multiplicación de microorganismos brindándoles un medio optimo el proceso deseado.²⁵
- **Efecto antibacteriano *in vitro*:** Es un proceso donde determinamos la efectividad antibacteriana en solución y la susceptibilidad de un microorganismo en concentraciones conocidas de un medicamento.²⁵
- **Extracto:** sustancia muy concentrada que se obtiene de una planta, semilla u otra cosa para diversos procedimientos.²⁵
- **Gram positivas:** Se denominan bacterias Gram-positivas o Gram positivas, aquellas bacterias que se tiñen de violeta o azul oscuro por la técnica de tinción de Gram.²⁵
- ***In vitro*:** Es una práctica para realizar un experimento en tubos de ensayo, en un ambiente estéril y controlado de un organismo vivo.²⁵
- **Tinción de Gram o coloración Gram:** Es una técnica de tinción, muy empleado en el área de microbiología para la visualización, identificación y analización de microorganismos.²⁵

2.4 Hipótesis

2.4.1. Hipótesis general

- El extracto hidroalcohólico de la semilla y cáscara de *Cydonia oblonga*. (Membrillo) tiene actividad antibacteriana *in vitro* frente a cepas de *Propionibacterium acnes*.

2.4.2. Hipótesis específicos

- Tiene efecto el extracto hidroalcohólico de la semilla y cáscara de *Cydonia oblonga* (Membrillo) al 10% frente a cepas de *Propionibacterium acnes*.
- Tiene efecto el extracto hidroalcohólico de la semilla y cáscara de *Cydonia oblonga* (Membrillo) al 20% frente a cepas de *Propionibacterium acnes*.
- Tiene efecto el extracto hidroalcohólico de la semilla y cáscara de *Cydonia oblonga* (Membrillo) al 40% frente a cepas de *Propionibacterium acnes*.
- Tiene metabolitos activos la *Cydonia oblonga* (Membrillo).

3 METODOLOGÍA

3.1 Tipo de investigación.

- Experimental: Porque los estudios en los que el equipo investigador asigna el factor de estudio y lo controla de forma deliberada para la realización de la investigación, según un plan preestablecido.²⁶
- Prospectivo: Porque aquellos estudios cuyo inicio es anterior a los hechos estudiados, de forma que los datos se recogen a medida que van sucediendo.²⁶
- Longitudinal: Porque los estudios en los que existe un lapso de tiempo entre las distintas variables que se evalúan, de forma que puede establecerse una secuencia temporal entre ellas.²⁶

3.2 Nivel de investigación

Nivel explicativo, porque generan respuestas a la relación causa-efecto.²⁷

3.3 Diseño de la investigación

El diseño de la investigación será de tipo experimental *in vitro* (Porque se evalúa un fenómeno dado introduciendo elementos que pueden modificar el comportamiento de las variables en estudio, los que fueron medidos en determinados momentos).

El ensayo *in vitro*, se realizará bajo condiciones fitoquímicas controladas, manteniendo siempre el control de muchos factores entre ellos la esterilización de los materiales utilizados en los diferentes ensayos realizados para dar mayor seguridad en la investigación:

- Esterilización del laboratorio antes y después de las pruebas realizadas.
- Vestimenta apropiada para el manejo adecuado de la investigación y de nuestra seguridad.
- Medios de cultivo con pH adecuado para no tener interferencia en los resultados.
- Auto clavado de los medios de cultivo, cloruro de sodio 0.9 % y de los materiales utilizados antes, durante y después de las pruebas realizadas, para no crear falsos positivos.
- Conservación de los medios y de las cepas bacterianas en refrigeración óptima.
- Siembra del cultivo en condiciones de esterilidad para no crear, interferencias en el trabajo.

- Incubación de las placas y bacterias de tubos en incubadoras a 37° C por 24 horas.

La distribución del grupo en estudio será el siguiente esquema:

Grupo Experimental: 3 probetas conteniendo el extracto hidroalcohólico de semilla y cáscara de la *Cydonia oblonga* (Membrillo), a concentraciones (10% 20% 40%).

- Grupo Control Positivo: Doxiciclina y Tetraciclina.
- Grupo Control Negativo: agua destilada.
- Las pruebas más utilizadas se basan en la actividad *in vitro* del microorganismo, aislado de una muestra biológica, esto nos permite seleccionar el compuesto más adecuado para el tratamiento de una infección bacteriana con distintas concentraciones en estudio y los antimicrobiano como control positivo Se determinaron por medición directa del halo de inhibición (mm).

3.4 Área de estudio

- El área de estudio de la presente investigación se realizó en el laboratorio de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad María Auxiliadora.

3.5 Población y muestra

La unidad de análisis estuvo conformada por los pocillos embebidos del extracto hidroalcohólico de semilla y cáscara de la *Cydonia oblonga* (Membrillo), colocados en placas de Petri con cultivos de cepas de: *Propionibacterium acnes* ATCC 11827 en el laboratorio de microbiología de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad María Auxiliadora.

3.5.1 Población microbiológica.

La población estuvo conformada por 01 cultivo (líquido y solido) de la bacteria *Propionibacterium acnes* ATCC 11827 al mismo que se les hicieron los ensayos con diferentes concentraciones del extracto vegetal en estudio obtenidos. Estuvo conformado por el número de colonias que se emplearon para la preparación del inóculo bacteriano, que osciló entre un grupo de colonias de tamaño y morfología similar. (Véase anexo)

3.5.2 Muestra biológica.

- Especificaciones de la muestra biológica está tipificada como cepas anaerobias Gram positiva.
- Nombre del Microorganismo: *Propionibacterium acnes*
- Número de catálogo: 0419
- Número de lote: 419-158**
- Numero de referencia: ATCC 11827 de la marca Microbiológicas ® Otorgado por Genlab del Perú S.A.C.
- Conservado en el área de Microbiología de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad María Auxiliadora (Véase anexo).

3.5.1 Criterios de Inclusión

Las bacterias son morfológicamente iguales. Solo se empleó bacterias de cepas recientes.

3.5.2 Criterios de Exclusión

Las bacterias no fueron morfológicamente iguales. Cepas que presentó contaminantes.

3.6 Variables y Operacionalización de variables

VARIABLE	TIPO	ESCALA	INDICADORES	INDICE
INDEPENDIENTE				
<i>Cydonia oblonga</i> (Membrillo)	Cualitativa	Nominal	Extracto	Actúa No Actúa
DEPENDIENTE				
Actividad Antibacteriana In Vitro del extracto hidroalcohólico frente <i>Propionibacterium acnés</i>	Cuantitativa	Ordinal	Halo Inhibitorio	Sensibilidad Moderada S. Resistencia

3.7 Instrumentos de recolección de datos

Los instrumentos de recolección de datos que se realizó, se sustentó con las tablas que se encuentran en el anexo. (Véase anexo).

3.8 Validación de los instrumentos de recolección de datos

Los instrumentos fueron validados por un juicio de expertos. (Véase anexo)

3.9 Procedimiento de recolección de datos.

3.9.1 Procedimiento para recolección del extracto vegetal.

3.9.1.1 Recolección de la Muestra vegetal.

Los residuos de la semilla y cáscara de *Cydonia oblonga* (Membrillo) fueron recolectados de las plantaciones del Distrito de Antioquía es uno de los treinta distritos de la provincia de Huarochirí, Departamento de Lima, tomándose en cuenta los criterios de inclusión y exclusión. (Véase anexo)

3.9.1.2 Identificación de la muestra vegetal.

La identificación de la muestra vegetal se realizó en el Museo de Historia Natural de la UNMSM. (Véase anexo)

3.9.1.3 Molienda de la muestra vegetal.

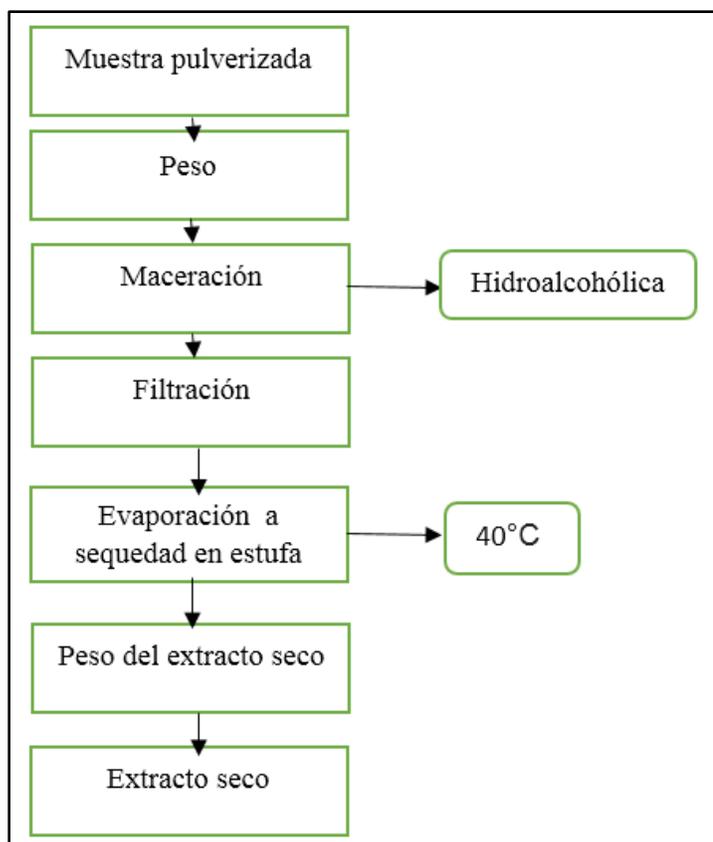
Una vez identificada, seleccionada y seca de la muestra en estudio, se utilizó un molino manual, con la cual se obtuvo una muestra pulverizada homogénea, lo cual fue depositada en un recipiente para su conservación en el Laboratorio de fitoquímica de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad María Auxiliadora.

3.9.1.4 Obtención del extracto hidroalcohólico.

El extracto hidroalcohólico se obtuvo por maceración de la muestra con etanol (70%), durante 7 días.

Para la extracción del extracto hidroalcohólico, fueron macerados 270 gramos de la muestra vegetal pulverizada en 1500 ml de etanol (70%), durante 7 días. La concentración del extracto se realizó en 2 recipientes de vidrio ámbar de 1L en constante agitación. Luego se procedió a filtrar el macerado para eliminar las impurezas y se utilizó una estufa para la evaporación a sequedad a una temperatura de 40°C por espacio de 6 a 7 días aproximadamente.²⁸

Grafico 8. Obtención del extracto hidroalcohólico de los residuos del membrillo



Fuente: Elaborado por los autores

Actividad antibacteriana *in vitro*

Los inóculos bacterianos se prepararon de acuerdo a las indicaciones establecidas por el Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (CLSI), tomando entre 3–4 colonias bien diferenciadas y morfológicamente similares de las bacterias previamente sembradas en placas Petri con el agar específico, y luego suspendiéndolas en tubos de ensayo en caldo homólogo estéril, para *P. acnes* empleando MH, LB y TSA, respectivamente.

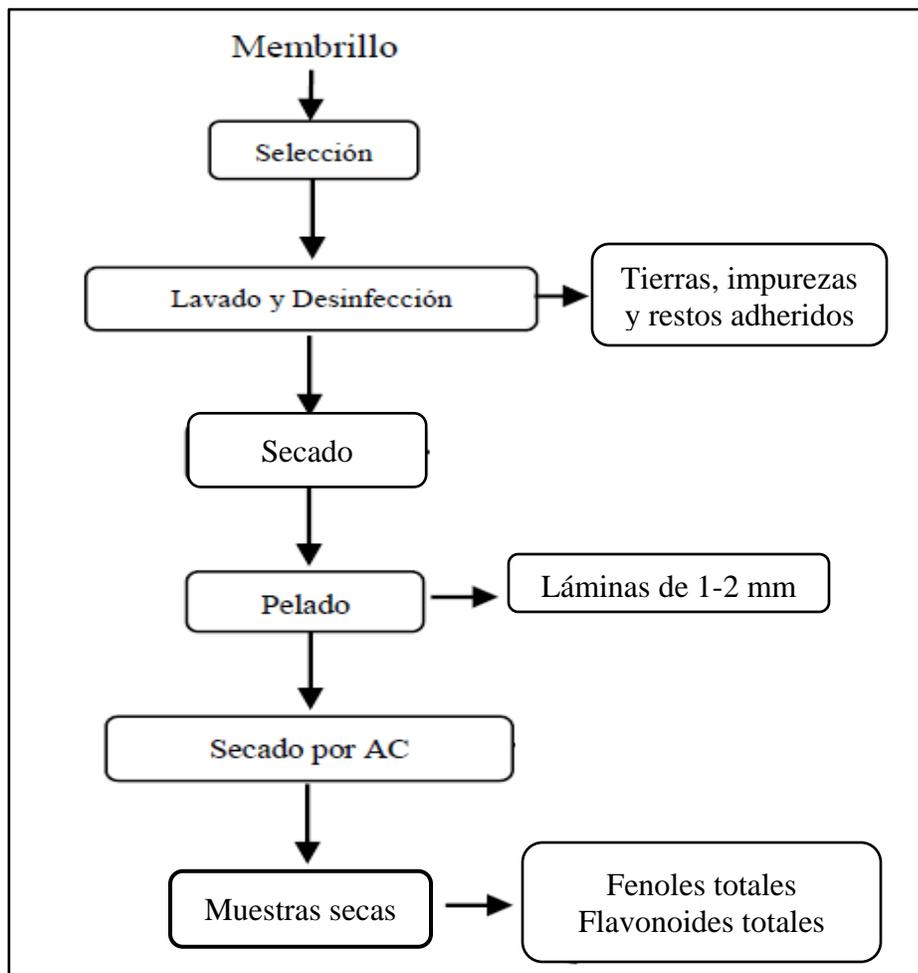
Para el aislamiento de *Propionibacterium acnes* se procedió a realizar un cultivo en medio diferencial de Müller Hilton donde crecieron colonias lactosa – positivas. Luego, estas colonias se repicaron en medio de identificación y diferencial de TSI, se incubaron a

temperatura de 37°C por 24 horas, al cabo de este tiempo se realizó la lectura bioquímica y otras pruebas complementarias como prueba de oxidasa y prueba de indol.

Preparación extracto alcohólico a partir de la cáscara y semilla de *Cydonia oblonga* (Membrillo).

1. Se recolecto en la zona de Antioquia por los propios investigadores.
2. La cáscara y la semilla fue extraída del fruto la cual la cáscara se cortó en trocitos de 5 mm para que tenga un secado rápido y homogéneo,
3. Luego se procedió a secar la cáscara y las semillas en una estufa a una temperatura de 40°C por 7 días en constante observación.
4. Se macero para obtener el compuesto activo mediante extracción hidroalcohólico. Para ello se pesó 270 g. de los residuos del membrillo pulverizado. El producto fue filtrado 3 veces, para luego obtener un extracto purificado. La solución resultante fue llevada a sequedad en una cámara de secado al vacío a una presión reducida y a una temperatura de 40°C por 7 días Muestras Secas del extracto fueron evaluados por una marcha fitoquímica, posteriormente se guardó en refrigeración a 2°C en frasco de vidrio color ámbar.

Grafico 9. Flujo de la recolección



Fuente: Elaborado por los autores

5. La preparación de los discos de sensibilidad con *Propionibacterium acnes* Para la realización de esta prueba se tomó 5 mL. de extracto del *Cydonia oblonga* (Membrillo) Se distribuyó en 30 viales estériles proporcionalmente para luego incorporar los discos de papel Whatman N°1 de 6mm de diámetro. Luego de 10 a 20 minutos, los viales fueron llevados a 37°C por 5 horas para su secado. Debido a la resistencia a antibióticos, debe determinarse la sensibilidad a antibióticos de las bacterias aisladas de muestras clínicas. Antibiogramas Técnica que permite demostrar la sensibilidad o resistencia de un microorganismo a la acción de distintos antimicrobianos. Los principales métodos para aerobios y anaerobios facultativos son: Difusión en agar (Kirby-Bauer)

6. Determinación de la sensibilidad antimicrobiana. Método de la difusión de agar (Kirby-Bauer modificado)

Materiales

- Mecheros
- Asa de colle
- Tubos con solución fisiológica estéril
- Placas estériles
- Hisopos estériles
- Medio de cultivo de agar Mueller Hinton
- Pinzas metálicas
- Regla
- Discos con antimicrobianos
- Microorganismos de ensayo
- Patrón de turbidez (Escala de Farland)

Día 1 Preparación de las placas con el medio de cultivo

Se vierte 25 a 30 mL de agar Mueller Hinton fundido en placas estériles de 100 mm de diámetro para obtener una altura de 4mm. Para eliminar la humedad se colocan las placas de 15 a 30 minutos en estufa de cultivo a 37°C.

7. Preparación del inóculo

Se toma a 4 o 5 colonias bien aisladas y de igual morfología de la placa de cultivo de 18 a 24 horas de incubación, se introduce en 5mL de caldo tripteína soja. Si la turbidez obtenida es la adecuada, no es necesario una incubación posterior, caso contrario se incuba a 37°C hasta lograr la turbidez del testigo, la que termina de ajustarse agregando solución fisiológica si es necesario. El testigo a usar corresponde al 0,5 de la escala de Mc Farland. -Preparación del medio Muller Hinton, asegurando un grosor del medio de 4 mm. El principio del método involucra el uso de una cantidad constante de antimicrobianos en un reservorio (discos de papel) aplicados sobre la superficie del agar en el cual se ha cultivado el microorganismo en cuestión.

Este procedimiento es recomendado por CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) (Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing) y es el método descrito de manera más completa para el cual se han desarrollado tablas de interpretación que están respaldadas por datos clínicos y de laboratorio. Es más accesible y de uso común en los laboratorios de diagnóstico clínico. Ha sido estandarizado para patógenos de rápido desarrollo:

8. Estandarización del inóculo

Estas placas luego fueron incubadas a 37°C por 24 horas, después del cual se realizaron la lectura para investigar la presencia de los halos de inhibición y la medición del diámetro (mm) colocando una regla sobre el reverso de la placa y comparando con las tablas estandarizadas

9. Elaboración del extracto hidroalcohólico

Obtención del extracto hidroalcohólico Para la obtención de los principios activos se empleara la técnica de maceración en agua y alcohol 70%. En un envase estéril de vidrio color ámbar se colocó en su interior 200 gramos de cáscara secas cortadas con las semillas secas pulverizadas de la *Cydonia oblonga* (Membrillo)

Luego se añadió 750 mL. (alcohol de 70°) hasta que cubrió por completo el contenido de las cáscara secas cortadas con las semillas secas pulverizadas de la *Cydonia oblonga* (Membrillo) este frasco se agitó tres veces por día; después de 7 días de maceración se filtró a través de doble papel de filtro Wathman N°4, posteriormente se procedió a la evaporación a sequedad en estufa a 37°C de temperatura, obteniéndose, de esta manera los principios activos y se comprobó la esterilidad del extracto mediante la siembra en agar.

10. Caracterización del perfil fitoquímico

- **Identificación de alcaloides**

Reacción de Dragendorff: Este reactivo (nitrato de bismuto yoduro de potasio) da, con los alcaloides en solución débilmente acidulada, precipitados de color rojo o anaranjado.

Reacción de Mayer: Este reactivo da con casi todas las soluciones de alcaloides, precipitados de color blanco, blanco amarillento o amarillo limón claro.

Reacción de Popoff: V gotas de residuo acidificado + gotas de reactivo

Reacción de Wagner: Concentrado de alcaloide se agrega 1 mL de reactivo de Wagner dando un precipitado marrón que indica un resultado positivo. (Véase anexo)

- **Identificación de flavonoides**

Reacción de Shinoda: a la muestra problema se agregó un trozo de cinta de magnesio seguido por gotas de HCL cc, las coloraciones roja (flavonas), roja a crimson (flavonoides), crimson a magenta y algunas veces azul o verde son consideradas positivas.

El cloruro de aluminio o tricloruro de aluminio (AlCl₃): es una sal binaria formada por aluminio y cloro. En algunas ocasiones se presenta como un polvo amarillo debido a que presenta impurezas a causa de la presencia de cloruro de hierro (III). (Véase anexo)

- **Identificación de fenoles**

Reacción con tricloruro férrico (FeCl₃): presenta coloración frente a cualquier compuesto fenólico, la aparición de un color verde sugiere la presencia de un derivado de catecol y de un color azul de un derivado pirogalol. (Véase anexo)

- **Identificación de taninos**

Reacción de gelatina: Se preparó una mezcla de solución de NaCl 5% con solución de gelatina 1% y se agregó una porción del extracto. Un precipitado es indicativo de la presencia de taninos. (Véase anexo)

3.10 Componente bioético

Se procedió a trabajar con las normas de Helsinki a nivel experimental, respetando todos sus pasos, nos comprometimos en ejecutar el experimento ya expresado con las normas ya establecidas.

3.11 Procesamiento y análisis de datos

El procedimiento de análisis de datos con respecto al estudio la variable obtenida se realizó mediante software estadístico SPSS 21.0 para Windows y Minitab versión en español, los cuales nos permitió elaborar cuadros de distribución de frecuencia, gráficos y calcular los datos estadísticos necesarios para el estudio.

4 RESULTADOS

Comprobación de hipótesis

Según los resultados se presenta la interpretación de acuerdo a cada una de las hipótesis formuladas.

Tabla 6: Análisis de diferencias de promedios

(I) tratamiento	(J) tratamiento	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
blanco	dox	-15,200 [*]	1,476	,000	-19,77	-10,63
	tetra	-15,800 [*]	1,476	,000	-20,37	-11,23
	10%	-9,400 [*]	1,476	,000	-13,97	-4,83
	20%	-10,800 [*]	1,476	,000	-15,37	-6,23
	40%	-13,400 [*]	1,476	,000	-17,97	-8,83

Fuente: Elaborado por los autores

Hipótesis específica 1

H₀: El extracto hidroalcohólico de la semilla y cáscara de *Cydonia oblonga* (Membrillo) al 10% no tiene efecto antibacteriano contra las cepas de *Propionibacterium acnes*.

H₁: El extracto hidroalcohólico de la semilla y cáscara de *Cydonia oblonga* (Membrillo) al 10% tiene efecto antibacteriano contra las cepas de *Propionibacterium acnes*.

Dado que el valor de la significancia (0) es menor a 0,05. Se rechaza la hipótesis nula manteniendo la hipótesis alterna la cual señala que el extracto hidroalcohólico de la semilla y cáscara de *Cydonia oblonga* (Membrillo) al 10% posee actividad antibacteriana contra las cepas de *Propionibacterium acnes*.

Hipótesis específica 2

H₀: El extracto hidroalcohólico de la semilla y cáscara de *Cydonia oblonga* (Membrillo) al 20% no tiene efecto antibacteriano contra las cepas de *Propionibacterium acnes*.

H₁: El extracto hidroalcohólico de la semilla y cáscara de *Cydonia oblonga* (Membrillo) al 20% tiene efecto antibacteriano contra las cepas de *Propionibacterium acnes*.

Dado que el valor de la significancia (0) es menor a 0,05. Se rechaza la hipótesis nula manteniendo la hipótesis alterna la cual señala que el extracto hidroalcohólico de la semilla y

cáscara de *Cydonia oblonga* (Membrillo) al 20% posee actividad antibacteriana contra las cepas de *Propionibacterium acnes*.

Hipótesis específica 3

H₀: El extracto hidroalcohólico de la semilla y cáscara de *Cydonia oblonga* (Membrillo) al 40% no tiene efecto antibacteriano contra las cepas de *Propionibacterium acnes*.

H₁: El extracto hidroalcohólico de la semilla y cáscara de *Cydonia oblonga* (Membrillo) al 40% tiene efecto antibacteriano contra las cepas de *Propionibacterium acnes*.

Dado que el valor de la significancia (0) es menor a 0,05. Se rechaza la hipótesis nula manteniendo la hipótesis alterna la cual señala que el extracto hidroalcohólico de la semilla y cáscara de *Cydonia oblonga* (Membrillo) al 40% posee actividad antibacteriana contra las cepas de *Propionibacterium acnes*.

Hipótesis específica 4

H₀: No presenta metabolitos activos la especie vegetal *Cydonia oblonga* (Membrillo).

H₁: Presenta metabolitos activos la especie vegetal *Cydonia oblonga* (Membrillo).

Tabla N.7 Resultados del estudio fitoquímico del *Cydonia oblonga*

Metabolito secundario	Reactivo	Resultado
Flavonoides	Shinoda	+++
	AlCl ₃	+++
Alcaloides	Dragendorf	+++
	Mayer	-
	Popoff	+++
	Wagner	+++
Fenoles	FeCl ₃	+++
Taninos	Gelatina	+++

Fuente: Elaborado por los autores

De acuerdo a los resultados descriptivos se evidencia la presencia de metabolitos activos encontrados por tanto se mantiene la hipótesis alterna la cual señala que presenta metabolitos activos la especie vegetal *Cydonia oblonga* (Membrillo).

Hipótesis general

H₀: El extracto hidroalcohólico de la semilla y cáscara de *Cydonia oblonga*. (Membrillo) no tiene actividad antibacteriana *in vitro* frente a cepas de *Propionibacterium acnes*.

H₁: El extracto hidroalcohólico de la semilla y cáscara de *Cydonia oblonga*. (Membrillo) tiene actividad antibacteriana *in vitro* frente a cepas de *Propionibacterium acnes*.

Tabla 8: Análisis de comparación de grupos

ANOVA de un factor						
Halo inh (mm)		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
halo18hr	Inter-grupos	848,567	5	169,713	31,140	,000
	Intra-grupos	130,800	24	5,450		
	Total	979,367	29			
halo24hr	Inter-grupos	973,067	5	194,613	30,973	,000
	Intra-grupos	150,800	24	6,283		
	Total	1123,867	29			
halo48hr	Inter-grupos	1177,600	5	235,520	41,808	,000
	Intra-grupos	135,200	24	5,633		
	Total	1312,800	29			

Fuente: Elaborado por los autores

De acuerdo al valor de la significancia (0), al ser este menor a 0,05. Se rechaza la hipótesis nula manteniendo la hipótesis alterna que señala que el extracto hidroalcohólico de la semilla y cáscara de *Cydonia oblonga*. (Membrillo) tiene actividad antibacteriana *in vitro* frente a cepas de *Propionibacterium acnes*.

Dichos resultados se mantienen a las 18, 24 y 48 horas

Tabla 9: Análisis de sub conjuntos de Tukey

halo48hr (mm)					
HSD de Tukey ^a					
tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05			
		1	2	3	4
Blanco	5	,00			
10%	5		10,00		
20%	5			11,80	
40%	5			14,80	14,80
Dox	5				17,80
Tetra	5				18,80
Sig.		1,000	,833	,372	,120
Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.					
a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 5.000.					

Fuente: Elaborado por los autores

Además de lo señalado anteriormente, puede evidenciarse la diferencia de promedio entre los subconjuntos lo cual demuestra el efecto de las diferentes concentraciones en comparación con el grupo blanco

Determinación de la efectividad en las diferentes muestras

Según el análisis de Tukey se evidencia mayores promedios en los halos de inhibición con el extracto hidroalcohólico de la semilla y cáscara de *Cydonia oblonga*. (Membrillo) al 20% y 40% pudiendo incluso compararse esta última concentración con los valores representados al emplear la doxiciclina y tetraciclina.

5 DISCUSION

En la Tabla 1, se obtuvo los resultados estadísticos a las diferentes concentraciones en cepas de *Propionibacterium acnes*. En el caso al 10%, tuvo como resultado efecto antibacteriano en relación al patrón positivo, es decir las concentraciones experimentales resaltan una cierta inhibición en el grupo bacteriano. Aunque existe una variación importante, se concuerda con los resultados del estudio de Meza A, et al.²⁹ (2013), que obtuvo resultados a partir de los aceites esenciales de hierba luisa (*Cymbopogon citratus*), demostrando una actividad antibacteriana en concentraciones desde 0.05% a 5%. Mientras que Tsai et al.³⁰ (2013) determinó el efecto inhibidor del extracto de romero (*Rosmarinus officinalis*) sobre la inflamación inducida por *P. acnes in vitro* e *in vivo*. Los resultados mostraron que el extracto etanólico de romero (EER) suprimía significativamente la secreción y la expresión de ARNm de citoquinas proinflamatorias, incluyendo interleucina (IL) -8, IL-1 β y factor de necrosis tumoral α en *P. acnes*. La posibilidad de sus componentes bioactivo sean tres componentes principales del romero: carnosol, ácido carnósico y ácido rosmarínico, ejercieron la mitigación de la inflamación inducida por *P. acnes*. Aunque en la concentración fue alrededor del 10%, valida la evidencia microbiológica desarrollada, porque lo que pone a prueba es el efecto en condiciones mínimas o superiores sobre una determinada población microbiana.

En el caso del grupo de concentración al 20% se evidenció mayor expansión del halo de inhibición, en comparación al grupo control positivo. Estos resultados son similares a los obtenidos por Guevara T.³¹ (2011) que investigo la Elaboración y determinación de eficacia *in vivo* de un gel para el acné a base de calaguala (*Campyloneurum amphostenon*) demostrando una actividad antibacteriana en concentración de 20%. En otros estudios se obtuvieron resultados de Guevara T. en la investigación de elaboración y determinación de eficacia *in vivo* de un gel para el acné a base de calaguala (*Campyloneurum amphostenon*). Mientras que Chutima et al.³² (2018) determino la Actividad antimicrobiana *in vitro* del gel que contiene el extracto de la planta denominada bolas de hierbas contra *Propionibacterium acnes*. Los resultados mostraron que el extracto de bolas de hierbas la actividad fue 500 veces menor. Se ha recomendado que los valores la concentración mínima inhibitoria (CMI) para extractos de plantas y compuestos puros deberían ser de 100 $\mu\text{g} / \text{ml}$ y 10 $\mu\text{g} / \text{ml}$, respectivamente. Así mismo se concluye que es importante considerar que el extracto de productos naturales tiene una alta actividad antimicrobiana contra *P.*

acnes. En todos estos estudios, al aplicar diferentes métodos antibacterianos se resume que algunas plantas medicinales, tienen actividad en bacterias anaerobias

Sin embargo, en la concentración al 40% del extracto hidroalcohólico de la semilla y cáscara de *Cydonia oblonga*, se dio como resultado efecto antibacteriano debido a la observación de mayor longitud del halo de inhibición, es decir mayor actividad que las concentraciones del 10% y 20%. Estos resultados son similares a los obtenidos por Julianti E, *et al.*³³ (2017). que investigó la actividad antibacteriana del extracto de corteza de canela y miel contra *Propionibacterium acnes* a las CMI de 256 µg / ml y 50%. Por lo tanto, la combinación de extracto de corteza de canela y miel tiene una actividad potencial contra las bacterias que causan el acné. En consecuencia, se sugiere que el extracto de semilla y cáscara de *Cydonia oblonga* tiene una buena actividad potencial contra las bacterias que causan el acné y, por lo tanto, puede desarrollarse como preparaciones tópicas contra el acné. Mientras que Lu-Te Chuang *et al.*³⁴ (2018) determino El extracto etanólico de *Origanum vulgare* suprime *Propionibacterium acnes* - respuestas inflamatorias inducidas en monocitos humanos y modelos de edema de oreja de ratón. Los resultados examinados del extracto de orégano etanólico (*Origanum vulgare*) sobre *P. acnes* vivo inducido *in vivo* e *in vitro*. Después de la extracción con etanol de hojas de orégano, se identificaron cuatro compuestos con una fuerte actividad antioxidante, que incluyen ácido rosmarínico, quercetina, apigenina y carvacrol, mediante cromatografía líquida de alta resolución. Usando el modelo de edema de oreja de ratón, demostramos que los extractos de etanol y orégano (EOE) se suprimieron significativamente Inflamación de la piel inducida por *P. acnes*, medida por el espesor de la oreja (32%) y el peso de la biopsia (37%). En un estudio separado, utilizando el cocultivo de *P. acnes* y monocitos humanos THP-1, EOE redujo la producción de interleuquina (IL) -8, IL-1β y factor de necrosis tumoral (TNF) -α hasta 40%, 37% y 18%, respectivamente, así como la expresión de estos tres mediadores proinflamatorios a nivel transcripcional.

En la Tabla 2 del estudio del análisis fitoquímico, se identificó mediante el análisis cualitativo la presencia de flavonoides, alcaloides, fenoles y taninos, donde existiría la posibilidad de estos fitoconstituyentes de poseer actividad antibacteriana. En investigaciones realizadas demostraron la actividad antibacteriana de los flavonoides contra *Propionibacterium acnes* por kaempferol y quercetina.³⁵

Nand P, et al.³⁶ (2012) sostiene que no solo los flavonoides presentan actividad en bacterias anaerobias, sino que adiciona la presencia de alcaloides específicamente en *Propionibacterium acnés*, con los extractos de *Glycyrrhiza glabra* y *Calendula officinalis* por el método de difusión en disco de agar. Se justifica a los fitoconstituyentes responsables de la actividad antiacné. Mientras que en el estudio realizado por Tofighi Z, et al³⁷ en el 2015, afirma que los flavonoides: Luteolina, Quercetina, Kaempferol, Kaempferol-7-O-glucósido, Apigenina y Apigenina-7-O-glucósido. Presentan actividad antimicrobiana sobre *Bacillus cereus*, *Staphylococcus epidermidis*, *S. aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*, aplicando el método de difusión de la placa. La base de extracción del vegetal fue metanólico, mientras nuestra muestra problema fue hidroalcohólico. Estos resultados confirman la capacidad antibacteriana del componente bioactivo.

De acuerdo a Elumalai, EK et al ³⁸ (2011) identifico la presencia de taninos, y flavonoides en los diferentes extractos de hojas con el extracto de metanol de *Merremia emarginata*, obtuvieron efectividad contra *Bacillus cereus* y *Escherichia coli*, mientras que el extracto acuoso fue más efectivo contra *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*. Aunque este autor lo ejecuto en cepas bacterianas diferentes, destacando efecto antibacteriano con flavonoides y taninos.

6. CONCLUSIONES

- La actividad antibacteriana *in vitro* del extracto hidroalcohólico de la semilla y cáscara de *Cydonia oblonga* (“Membrillo”) frente a cepas de *Propionibacterium acnes* fue mayor a la concentración del 40% en comparación al 10%, 20%, pero una diferencia menor antibacteriana frente al grupo control positivo (doxiciclina y tetraciclina)
- El efecto antibacteriano *in vitro* del extracto hidroalcohólico de la semilla y cáscara de *Cydonia oblonga* (“Membrillo”) a la concentración del 10% frente a cepas de *Propionibacterium acnes*, presento efecto reducido observándose en el halo de inhibición una longitud menor (diferencias de medias de -9,400) en comparación a la tetraciclina y doxiciclina (15,200 y -15,800 respectivamente).
- En la concentración del 20% el halo de inhibición fue mayor a la concentración del 10% al evaluar frente a cepas de *Propionibacterium acnes*. Es decir, el rango de diferencias de medias fue superior, pero menor al grupo positivo. Observándose efecto inhibitorio menor en comparación al grupo control positivo
- Se evidenció que en concentraciones al 40%, la inhibición del halo tuvo un efecto antibacteriano mayor y significativo de acuerdo a las diferencias de medias (-13,400), en comparación a las concentraciones del 10% y 20%, sin embargo, el resultado fue cercano al grupo control positivo.
- Los metabolitos activos del extracto hidroalcohólico del *Cydonia oblonga* presentan metabolitos tales como: flavonoides, alcaloides, fenoles y taninos por el método cualitativo. Posiblemente tendrían actividad antibacteriana contra las cepas de *Propionibacterium acnes*.

7 RECOMENDACIONES

- Impulsar la investigación de plantas medicinales nativas del Perú, para evidenciar científicamente su importancia en los procesos infecciones de mayor prevalencia en el País.
- Revalorar el estudio fitofarmacológico del *Cydonia oblonga* (Membrillo) realizando estudios experimentales con otras actividades medicinales.
- Investigar más a fondo sobre los beneficios terapéuticos de la planta de *Cydonia oblonga* (Membrillo), ya que no existe una referencia amplia sobre esta planta.
- Complementar estudios de la planta de *Cydonia oblonga* (Membrillo), con respecto al acné en productos y formas farmacéuticas.
- Se recomienda el uso del extracto del *Cydonia oblonga* (Membrillo) siguiendo estrictamente las especificaciones dadas.

8 REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Monestel M, Acné, causas del acné hormonal y tratamiento 2014.
2. Corrales A, El acné constituye una patología dermatológica frecuente en diferentes etapas de la vida. 2016.
3. Flores M, Kaminsky A. enfermedades crónicas de la piel. Consenso Ibero-Latinoamericano. 2014.
4. Bathe, K. & Williams, H. C. Epidemiology of *acne vulgaris*. British Journal of Dermatology. 2012:168, 474–485.
5. Espinoza M, Gómez E, Aguilar J, Cabanillas J, Santa M, Rodríguez I, et al. Aprovechamiento de los residuos del membrillo (*Cydonia oblonga L.*) como fuente de compuestos bioactivos. Ciencia Agroindustrial .2015. Vol. 5, (2).
6. Espinoza M, Gómez E, Aguilar J, Cabanillas J, Santa M, Rodríguez I, et al. Thermal impact of Refracting Window™ drying on the antioxidant metabolites of quince peels (*Cydonia oblonga L.*). Ciencia Agroindustrial .2015. Pp.143-151.
7. Calderón Parra, J. Evaluación de métodos de inactivación enzimática en la obtención de pulpa de membrillo (*Cydonia oblonga*). [Tesis de postgrado]. Tarma: Facultad de ciencias aplicadas, Universidad nacional del centro del Perú; 2015.
8. Matiz G, León G, Del Rosario M. Actividad antibacteriana in vitro de diecinueve aceites esenciales frente a bacterias asociadas al acné. Revista Cubana de Farmacia.2015. Vol. 49, (1). pp. 103-116.
9. Torrenegra M. Matiz G, González J, León G. Actividad antibacteriana in vitro de aceites esenciales frente a microorganismos implicados en el acné. Revista Cubana Farmacia.2015.vol.49 (3).

10. Solís Mayorga M, Estudio sobre la susceptibilidad antimicrobiana *del Propionibacterium acnes* Y *Staphylococcus epidermidis* en pacientes con acné vulgaris, atendidos en el servicio de dermatología en el hospital general Enrique Garcés, en el periodo comprendido entre junio y agosto 2015. [Tesis de postgrado]. Quito: Facultad de medicina. Pontificia Universidad Católica Del Ecuador; 2015.
11. Sharma R; Lall N. Antibacterial, actividades antioxidantes y citotoxicidad de las plantas contra *Propionibacterium acnes*. Revista sudafricana de ciencia. 2014; 110 (11/12): 1-8.
12. Barbosa V, Scheiffer C; Cardozo A; Pietruchinski E; Santos C; Silveira D.*et al.* Avaliação da atividade antibacteriana do óleo essencial de *Rosmarinus officinalis* L. e tintura de própolis frente à bactéria causadora da acne *Propionibacterium acnes* Revista Brasileira de Plantas Medicinales. 2014; 16 (2): 169-173.
13. Choi J, Lee K, Lee B, Chun K, Kim Y, Hong Y *et al.* Antibacterial activity of the phlorotannins dieckol and phlorofuofuroeckol-A from *Ecklonia cava* against *Propionibacterium acnes*. Ciencias botánicas 2014; 92 (3): 425.
14. Silva F, Oliveira G. Conhecimento popular e atividade antimicrobiana de *Cydonia oblonga* Miller (Rosaceae) Revista Brasileira de Plantas Mediciniais. 2013; 15(1):98-103.
15. Cruz Avilés, E. Caracterización bioquímica y susceptibilidad a antimicrobianos de cepas de *Propionibacterium acnés* aisladas de personas con acné. [Tesis de postgrado]. Santiago: Facultad de ciencias veterinarias y pecuarias, Universidad de Chile; 2010.
16. James J.L. New understanding of the pathogenesis of acne. J. AM. Acad. Dermatol. 32: 15-25. 1995.
17. Russell, J.J. Topical therapy for acne. [en línea] 2000. Disponible en: <<http://www.aafp.org/afp/20000115/357.html>> [consulta: 13-02-2018].
18. Gonzalez-Serva A. La patogénesis del acné: de un paradigma hiperqueratósico (comedón) a uno de calciosis folicular (sebolito). Medicina Cutánea. 24(1): 11-25. 1996.

19. Merchan Cuenca V. El acné y su relación en la autoestima de los estudiantes del bachillerato de la unidad educativa “Fernández Suarez Palacio” del barrio Carigan de la ciudad de Loja, periodo febrero – julio del 2016. [Tesis de postgrado]. Loja: Facultad de salud humana. Universidad Nacional de Loja; 2016.
20. Dávila Cano M. Elaboración de saborizantes en polvo, a partir de cinco frutas deshidratadas como: higo, membrillo, níspero, mortiño, y uvilla para la aplicación en cinco tipos de bizcochos y cinco tiposde galletas. [Tesis de postgrado]. Cuenca: Facultad ciencias de la hospitalidad. Universidad de Cuenca; 2015
21. Caruajulca Blanco D. Efecto de la concentración de extracto de STEVIA (stevia rebaudiana bertonii) En las características fisicoquímicas y sensoriales de néctar de membrillo. [Tesis de postgrado]. Trujillo: Facultad de ciencias agropecuarias. Universidad Nacional de Trujillo; 2012
22. Casaca, A., D. El cultivo de membrillo (Cydonia oblonga).2005.
23. Ministerio de Salud del Perú. Instituto Nacional de Salud Tablas peruanas de composición de alimentos. Centro de Alimentación y Nutrición. Instituto Nacional de Salud. Perú.2009.
24. INEI. Perú: Principales indicadores departamentales 2006 – 2009. Oficina Técnica de Estadísticas Departamentales del Instituto Nacional de Estadística e Informática.2010.
25. Dorland, N. Dorland diccionario enciclopédico ilustrado de medicina. Madrid: Elsevier España; 2005.
26. Gómez Gonzales, W; Gonzales Santos, E; Rosales Rojas, R. Metodología de la investigación. Lima: CYM innova publicidad; 2015.
27. Hernández Sampieri R, Fernández Collado C, Baptista Lucio P. Metodología de la investigación. México, D.F.: McGraw-Hill Education; 2014.

28. Acaro Chuquicaña E. Efecto anticonceptivo y post-coital del extracto etanólico del *Desmodium molliculum* (HBK). DC. "Manayupa" en ratas hembras cepa Holtzmann. [Tesis de maestría]. Lima: facultad de farmacia y bioquímica, Universidad Nacional Mayor de San Marcos .2010.
29. Meza A, Vargas D. Evaluación de la actividad antibacteriana in vitro del aceite esencial de hierba luisa (*Cymbopogon citratus* (dc) stapf), poaceae en una formulación cosmética con finalidad antiacnéica. [Tesis de postgrado]. Quito: Escuela de Universidad Poilitécnica Salesina; 2013.
30. Tsai T, Chuang L, Lien T, Liing Y, Chen W, Tsai P. Rosmarinus officinalis Extract Suppresses Propionibacterium acnes-Induced Inflammatory Responses. J Med Food. [Internet].2013 Apr [Consultado 18 setiembre 2018]; 16(4): 324–333.
31. Guevara T. Elaboración y determinación de eficacia in vivo de un gel para el acné a base de calaguala (*campyloneurum amphostenon*). [Tesis de postgrado]. Riobamba: Facultad de ciencias. Escuela superior politécnica de Chimborazo; 2011.
32. Chutima J. In Vitro Antimicrobial Activity of Gel Containing the Herbal Ball Extract against *Propionibacterium acnes*. Scientia pharmaceutica. 2018, 86(1).
33. Julianti E, Rajah K, Fidrianny I. Antibacterial Activity of Ethanoic Extract of Cinnamon Bark, Honey, and Their Combination Effects against Acne-Causing Bacteria. Sci Pharm. 2017; 85(2): 19.
34. Lu-Te Chuang *et al.* Ethanolic Extract of *Origanum vulgare* Suppresses *Propionibacterium acnes*-Induced Inflammatory Responses in Human Monocyte and Mouse Ear Edema Models. Molecules 2018, 23(8), 1987.
35. Lim YH, Kim IH, Seo JJ. In-vitro activity of Kaempferol isolated from the *Impatiens balsamina* alone and in combination with Erythromycin or Clindamycin against *Propionibacterium acnes*. J. Microbiol. 2007; 45:473–477.

36. Nand P, Drabu S, Gupta RK. Phytochemical and antimicrobial screening of medicinal plants for the treatment of acne. *Indian Journal of Natural Products and Resources*. 2012; 3(1):28–32.
37. Tofighi Z, Molazem M, Doostdar B, Taban P, Shahverdi A, Samadi N, Yassaa N. Antimicrobial Activities of Three Medicinal Plants and Investigation of Flavonoids of *Tripleurospermum disciforme*. *Iran J Pharm Res*. [Internet]. 2015 [Consultado 21 setiembre 2018]. Winter; 14(1): 225–231.
38. Elumalai EK, Ramachandran M, Thirumalai MT, Vinothkumar P. Antibacterial activity of various leaf extracts of *Merremia emarginata*. *Asian Pac J Trop Biomed*. 2011 Oct; 1(5): 406–408.

9 ANEXO 1

9.1 Matriz de consistencia (Titulo del proyecto, formulación del problema, objetivos, hipótesis y metodología).

TITULO DEL PROYECTO	FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	METODOLOGÍA
Actividad antibacteriana <i>in vitro</i> del extracto hidroalcohólico de la semilla y cáscara de <i>Cydonia oblonga</i> (Membrillo) frente a cepas de <i>Propionibacterium acnes</i>	<p>PROBLEMA GENERAL ¿Tendrá actividad antibacteriana <i>in vitro</i> el extracto hidroalcohólico de la semilla y cáscara de <i>Cydonia oblonga</i> (Membrillo) frente a cepas de <i>Propionibacterium acnes</i>?</p> <p>PROBLEMAS ESPECÍFICOS -¿Cuáles son los metabolitos activos con efecto antibacteriano de la semilla y cáscara de <i>Cydonia oblonga</i> (Membrillo) frente a cepas de <i>Propionibacterium acnes</i>? -¿Cuál es el efecto antibacteriano <i>in vitro</i> del extracto hidroalcohólico de la semilla y cáscara de <i>Cydonia oblonga</i> (Membrillo) a la concentración del 10% frente a cepas de <i>Propionibacterium acnes</i>? -¿Cuál es el efecto antibacteriano <i>in vitro</i> del extracto hidroalcohólico de la semilla y cáscara de <i>Cydonia oblonga</i> (Membrillo) a la concentración del 20% frente a cepas de <i>Propionibacterium acnes</i>? -¿Cuál es el efecto antibacteriano <i>in vitro</i> del extracto hidroalcohólico de la semilla y cáscara de <i>Cydonia oblonga</i> (Membrillo) a la concentración del 40% frente a cepas de <i>Propionibacterium acnes</i>?</p>	<p>OBJETIVO GENERAL Determinar la actividad antibacteriana <i>in vitro</i> el extracto hidroalcohólico de la semilla y cáscara de <i>Cydonia oblonga</i> (Membrillo) frente a cepas de <i>Propionibacterium acnes</i></p> <p>OBJETIVO ESPECÍFICOS -Identificar los metabolitos activos con efecto antibacteriano de la semilla y cáscara de <i>Cydonia oblonga</i> (Membrillo) frente a cepas de <i>Propionibacterium acnes</i> -Evaluar el efecto antibacteriano <i>In Vitro</i> del extracto hidroalcohólico de la semilla y cáscara de <i>Cydonia oblonga</i> (Membrillo) a la concentración del 10% frente a cepas de <i>Propionibacterium acnes</i> -Evaluar el efecto antibacteriana <i>In Vitro</i> del extracto hidroalcohólico de la semilla y cáscara de <i>Cydonia oblonga</i> (Membrillo) a la concentración del 20% frente a cepas de <i>Propionibacterium acnes</i> -Evaluar el efecto antibacteriana <i>In Vitro</i> del extracto hidroalcohólico de la semilla y cáscara de <i>Cydonia oblonga</i> (Membrillo) a la concentración del 40% frente a cepas de <i>Propionibacterium acnes</i></p>	<p>HIPOTESIS GENERAL Tiene actividad antibacteriana <i>in vitro</i> el extracto hidroalcohólico de la semilla y cáscara de <i>Cydonia oblonga</i> (Membrillo) frente a cepas de <i>Propionibacterium acnes</i></p> <p>HIPÓTESIS ESPECÍFICOS -Tiene efecto antibacteriano <i>in vitro</i> del extracto hidroalcohólico de la semilla y cáscara de <i>Cydonia oblonga</i> (Membrillo) a la concentración del 10% frente a cepas de <i>Propionibacterium acnes</i>. -Tiene el efecto antibacteriano <i>in vitro</i> del extracto hidroalcohólico de la semilla y cáscara de <i>Cydonia oblonga</i> (Membrillo) a la concentración del 20% frente a cepas de <i>Propionibacterium acnes</i>. -Tiene efecto antibacteriano <i>in vitro</i> del extracto hidroalcohólico de la semilla y cáscara de <i>Cydonia oblonga</i> (Membrillo) a la concentración del 40% frente a cepas de <i>Propionibacterium acnes</i> -Los metabolitos activos de la semilla y cáscara de <i>Cydonia oblonga</i> (Membrillo) tienen efecto antibacteriano frente a cepas de <i>Propionibacterium acnes</i>.</p>	<p>Tipo de investigación. -Experimental: Porque los estudios en los que el equipo investigador asigna el factor de estudio y lo controla de forma deliberada para la realización de la investigación, según un plan preestablecido. -Prospectivo: Porque aquellos estudios cuyo inicio es anterior a los hechos estudiados, de forma que los datos se recogen a medida que van sucediendo. -Longitudinal. Porque los estudios en los que existe un lapso de tiempo entre las distintas variables que se evalúan, de forma que puede establecerse una secuencia temporal entre ellas.</p> <p>Nivel de investigación Nivel explicativo porque generan un sentido de entendimiento y son altamente estructurados.</p> <p>Diseño de la investigación El diseño de la investigación será de tipo experimental <i>in vitro</i> (Porque se evalúa un fenómeno dado introduciendo elementos que pueden modificar el comportamiento de las variables en estudio, los que fueron medidos en determinados momentos). El ensayo <i>in vitro</i>, se realizará bajo condiciones fotoquímicas controladas, manteniendo siempre el control de muchos factores entre ellos la esterilización de los materiales utilizados en los diferentes ensayos realizados para dar mayor seguridad en la investigación: -Esterilización del laboratorio antes y después de las pruebas realizadas. -Medios de cultivo con PH adecuado para no tener interferencia en los resultados. -Auto clavado de los medios de cultivo, cloruro de sodio 0.9 % y de los materiales utilizados antes, durante y después de las pruebas realizadas, para no crear falsos positivos. -Conservación de los medios y de las cepas bacterianas en refrigeración óptima. -Siembra del cultivo en condiciones de esterilidad para no crear, interferencias en el trabajo. -Incubación de las placas y bacterias de tubos en incubadoras a 37° C por 24 horas. -Análisis de datos</p> <p>Método de kirby Bauer</p>

9.2 Instrumentos de recolección de datos

Tabla 1. Recolección de la muestra

Peso del membrillo(gr)	Cascara húmeda(gr)	Semilla húmeda(gr)	Cascara seca (gr)	Semilla seca (gr)
2kg	300	7.25	55.20	3.32
3kg	450	11.16	82.48	5.21
4kg	550	13.09	118.02	6.18
Peso total	1300	31.94	255.7	14.71

Tabla 2. Resultados según su Halo de inhibición

Placa 1

Concentración	Halo de inhibición (mm)		
	18 horas (mm)	24 horas(mm)	48 horas(mm)
10%	9	9	9
20%	11	11	12
40%	16	16	17
Doxiciclina	20	21	22
Tetraciclina	20	21	22
Blanco	0	0	0

Placa 2

Concentración	Halo de inhibición (mm)		
	18 horas (mm)	24 horas(mm)	48 horas(mm)
10%	10	10	10
20%	11	11	11
40%	15	17	17
Doxiciclina	16	18	19
Tetraciclina	16	18	20
Blanco	0	0	0

Placa 3

Concentración	Halo de inhibición (mm)		
	18 horas (mm)	24 horas(mm)	48 horas(mm)
10%	10	11	12
20%	11	11	13
40%	13	14	16
Doxiciclina	14	15	17
Tetraciclina	16	16	17

Blanco	0	0	0
--------	---	---	---

Placa 4

Concentración	Halo de inhibición (mm)		
	18 horas (mm)	24 horas(mm)	48 horas(mm)
10%	10	10	10
20%	13	13	14
40%	14	14	14
Doxiciclina	10	10	10
Tetraciclina	15	16	19
Blanco	0	0	0

Placa 5

Concentración	Halo de inhibición (mm)		
	18 horas (mm)	24 horas(mm)	48 horas(mm)
10%	8	8	8
20%	8	8	9
40%	9	9	10
Doxiciclina	16	17	19
Tetraciclina	12	14	16
Blanco	0	0	0

Placa 6

Concentración	Halo de inhibición (mm)		
	18 horas (mm)	24 horas(mm)	48 horas(mm)
10%	5	5	5
Doxiciclina	32	33	34
Tetraciclina	35	36	37
Blanco	0	0	0

Placa 7

Concentración	Halo de inhibición (mm)		
	18 horas (mm)	24 horas(mm)	48 horas(mm)
10%	9	9	9
Doxiciclina	12	12	13
Tetraciclina	12	13	14
Blanco	0	0	0

Placa 8

	Halo de inhibición (mm)		
Concentración	18 horas (mm)	24 horas(mm)	48 horas(mm)
10%	12	12	12
Doxiciclina	13	14	14
Tetraciclina	14	15	16
Blanco	0	0	0

Placa 9

	Halo de inhibición (mm)		
Concentración	18 horas (mm)	24 horas(mm)	48 horas(mm)
10%	11	11	11
Doxiciclina	20	22	23
Tetraciclina	22	24	24
Blanco	0	0	0

Placa 10

	Halo de inhibición (mm)		
Concentración	18 horas (mm)	24 horas(mm)	48 horas(mm)
10%	6	10	10
Doxiciclina	16	18	20
Tetraciclina	22	25	29
Blanco	0	0	0

Placa 11

	Halo de inhibición (mm)		
Concentración	18 horas (mm)	24 horas(mm)	48 horas(mm)
20%	15	16	19
Doxiciclina	20	21	22
Tetraciclina	21	21	22
Blanco	0	0	0

Placa 12

	Halo de inhibición (mm)		
Concentración	18 horas (mm)	24 horas(mm)	48 horas(mm)
20%	10	14	15
Doxiciclina	18	21	22
Tetraciclina	16	22	26
Blanco	0	0	0

Placa 13

	Halo de inhibición (mm)		
Concentración	18 horas (mm)	24 horas(mm)	48 horas(mm)
20%	14	14	14
Doxiciclina	14	15	16
Tetraciclina	20	22	23
Blanco	0	0	0

Placa 14

	Halo de inhibición (mm)		
Concentración	18 horas (mm)	24 horas(mm)	48 horas(mm)
20%	13	14	14
Doxiciclina	14	15	15
Tetraciclina	20	21	21
Blanco	0	0	0

Placa 15

	Halo de inhibición (mm)		
Concentración	18 horas (mm)	24 horas(mm)	48 horas(mm)
20%	13	14	15
Doxiciclina	16	16	18
Tetraciclina	22	25	29
Blanco	0	0	0

Placa 16

	Halo de inhibición (mm)		
Concentración	18 horas (mm)	24 horas(mm)	48 horas(mm)
40%	14	15	16
Doxiciclina	12	13	14
Tetraciclina	19	20	21
Blanco	0	0	0

Placa 17

	Halo de inhibición (mm)		
Concentración	18 horas (mm)	24 horas(mm)	48 horas(mm)
40%	9	9	9
Doxiciclina	9	9	10
Tetraciclina	9	9	10
Blanco	0	0	0

Placa 18

Concentración	Halo de inhibición (mm)		
	18 horas (mm)	24 horas(mm)	48 horas(mm)
40%	15	16	16
Doxiciclina	14	14	14
Tetraciclina	20	22	23
Blanco	0	0	0

Placa 19

Concentración	Halo de inhibición (mm)		
	18 horas (mm)	24 horas(mm)	48 horas(mm)
40%	16	18	20
Doxiciclina	14	14	19
Tetraciclina	12	13	19
Blanco	0	0	0

Placa 20

Concentración	Halo de inhibición (mm)		
	18 horas (mm)	24 horas(mm)	48 horas(mm)
40%	17	18	19
Doxiciclina	20	22	24
Tetraciclina	18	21	23
Blanco	0	0	0

ANEXO 02

Estudio de solubilidad

Tabla N.1 Resultados del estudio de solubilidad del *Cydonia oblonga*

Solubles	Resultado
Agua	+++
Metanol	+++
Etanol	-
Hexano	-
Éter	-
Acetona	-
Alcohol	+++

Fuente: Elaborado por los autores

Figura 1



Fuente: Elaborado por los autores

Estudio fitoquímico

Inicialmente, mediante un tamizaje fitoquímico, se realizó una exploración de los metabolitos presentes en la semilla y cáscara del membrillo (*Cydonia oblonga*), analizando los extractos etéreo, alcohólico y acuoso. Las tablas siguientes muestran, de forma resumida, los resultados obtenidos para los distintos extractos de este órgano de la planta.

Tabla N.2 Resultados del estudio fitoquímico del *Cydonia oblonga*.

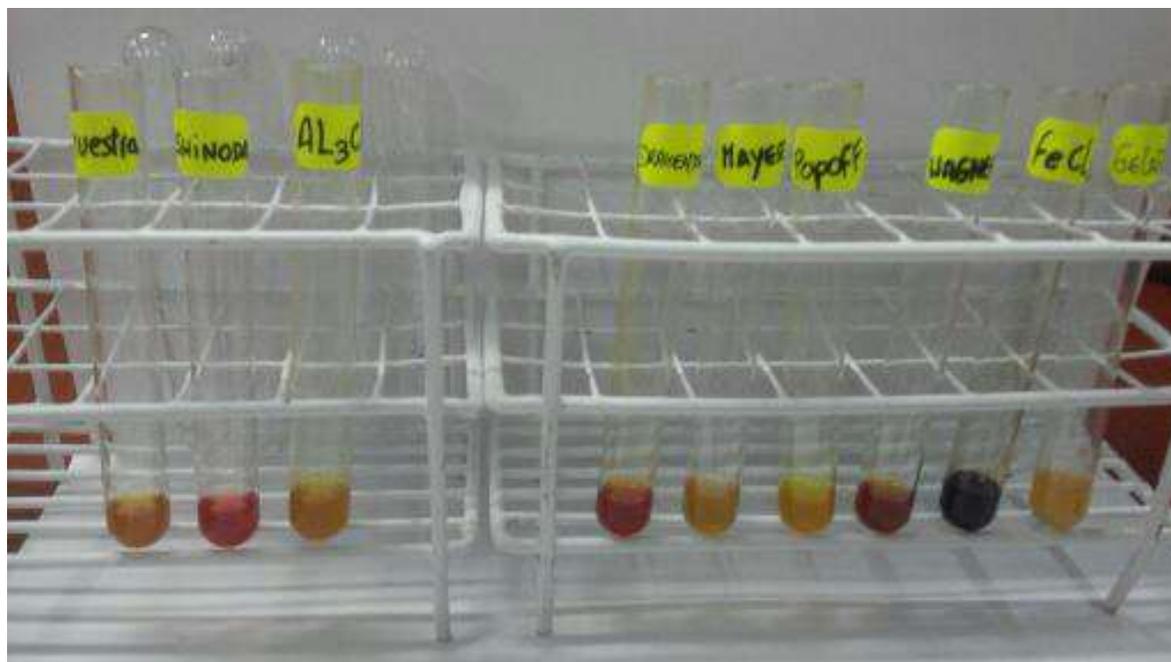
Metabolito secundario	Reactivo	Resultado
Flavonoides	Shinoda	+ + +
	AlCl ₃	+ + +
Alcaloides	Dragendorf	+ + +
	Mayer	-
	Popoff	+ + +
	Wagner	+ + +
Fenoles	FeCl ₃	+ + +
Taninos	Gelatina	+ + +

Fuente: Elaborado por los autores

Figura 2



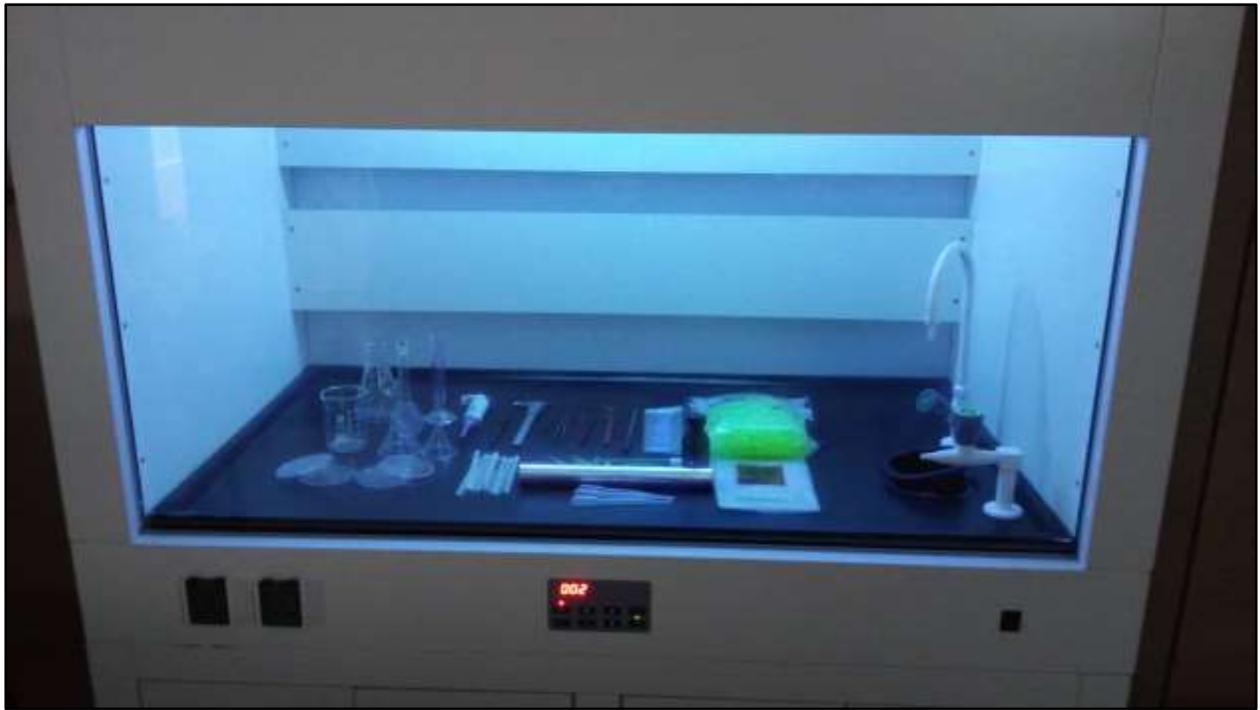
Fuente: Elaborado por los autores



Fuente: Elaborado por los autores

MATERIALES





PROCEDIMIENTOS Y RESULTADOS



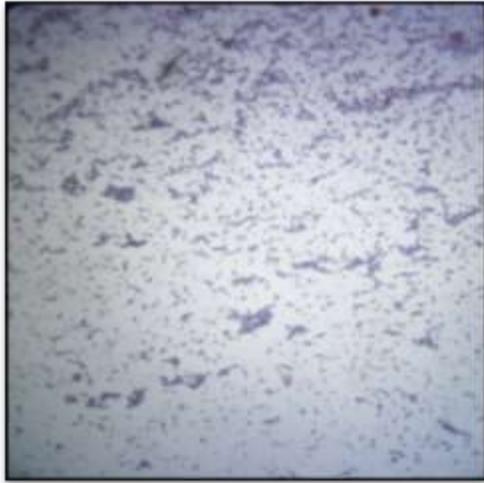
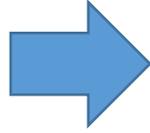
← RECOLECCION DE LA MUESTRA →



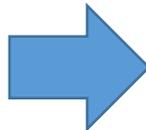
← PREPARACION DEL EXTRACTO →



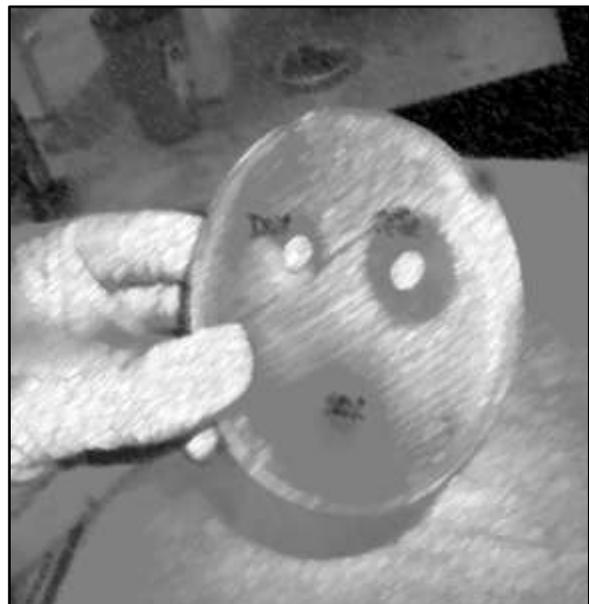
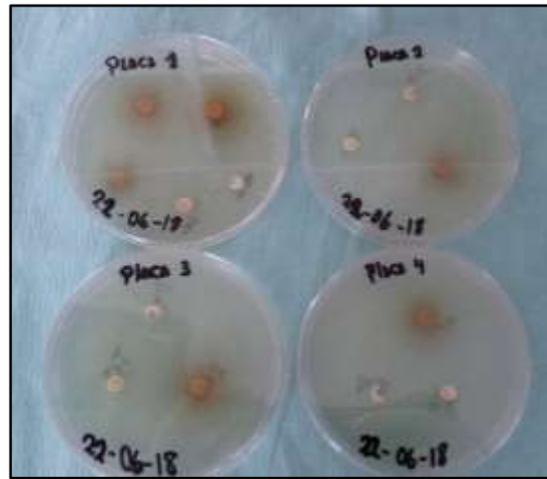
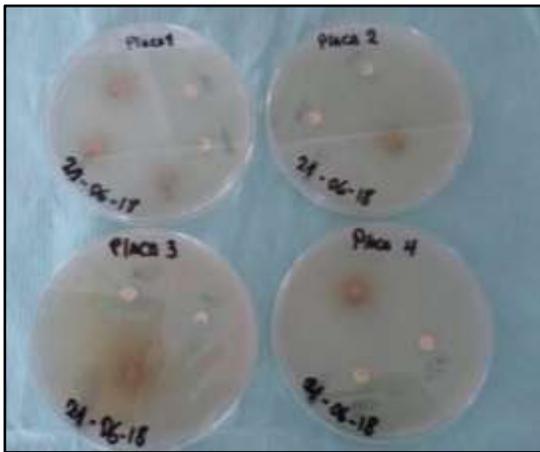
Elaboración de la tinción de Gram



Sembrado del *Propionibacterium acnes*



RESULTADOS DEL ANTIBIOGRAMA.



ANEXO 03

“Año del Dialogo y la Reconciliación Nacional”

FICHA SOLICITUD DE PERMISO

Solicitud de Permiso

Lima 02 marzo del 2018

Universidad Privada María Auxiliadora

Escuela De Ciencias De La Salud Farmacia Y Bioquímica

Dr. Rubén Eduardo Cueva Mestanza

Director de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad María Auxiliadora.

Asunto: Ejecución Del Proyecto De Investigación Científica Para Optar El Título Profesional.

De mi mayor consideración, nos dirigimos a usted para saludarle cordialmente y solicitarle la autorización para la ejecución del Proyecto de Investigación: “Actividad antibacteriano *in vitro* del extracto hidroalcohólico de la semilla y cascara de *Cydonia oblonga* (Membrillo) frente a cepas de *Propionibacterium acnes*” de mi autoría, en el laboratorio de Microbiología que usted dignamente dirige.

Le agradecería disponer de su consideración para mi requerimiento con motivo de que el proyecto de investigación cuente con su permiso.

Agradeciendo su gentil atención, quedo a espera de su respuesta.

Atentamente:

Bachiller: Gómez Morales, Jorge H.

Bachiller: Hilario Baldeon, Luis M.

Se adjunta: Proyecto de Investigación

ANEXO 04

“Año del Dialogo y la Reconciliación Nacional”

FORMATO DE RECOLECCIÓN DE LOS DATOS DE LA ESPECIE *CIDONYA OBLONGA* (MEMBRILLO)

DATOS GENERALES:

Fecha de la recolección [23 febrero de 2018](#)

Hora de la recolección: [11am](#)

Lugar de recolección. [Distrito de Antioquia](#). Provincia: [Huarochirí](#) Departamento. [Lima](#)

Clima: [Templado](#) Tipo de bosque. Tipo de Suelo: [Arcilloso](#).

Nombre de los recolectores [Gómez morales, Jorge Helio e Hilario Baldeon, Luis Miguel](#)

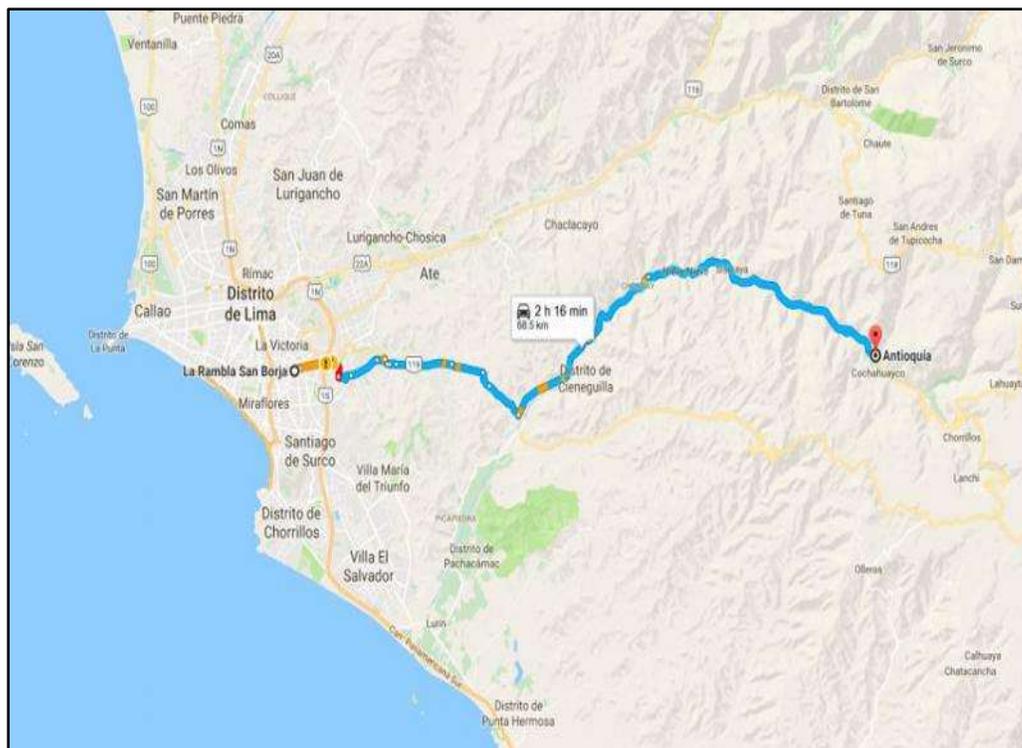
N° Colección: [1](#)

TAXONOMÍA:

Familia Vegetal: [Rosaceae](#) Nombre Científico [Cydonia Oblonga](#) Nombre Vulgar [Membrillo](#)

Constancia n°067-UMS-2018.

IMAGEN SATELITAL DE LA UBICACIÓN GEOGRÁFICA DE LA COMUNIDAD DE ANTOQUIA





"Año del Diálogo y la Reconciliación Nacional"

CONSTANCIA N° 067-USM-2018

EL JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (tallos y hojas) recibida de Luis Miguel HILARIO BALDEON, estudiante de la Universidad María Auxiliadora; ha sido estudiada y clasificada como: **Cynodonía oblonga** Mill. y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988).

DIVISION: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

SUB CLASE: ROSIDAE

ORDEN: ROSALES

FAMILIA: ROSACEAE

GENERO: Cynodonía

ESPECIE: Cynodonía oblonga Mill.

Nombre vulgar: "Membrillo"

Determinado por: Blga. María Isabel La Torre Acuy

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para fines de estudios.

Lima, 7 de Marzo de 2018

Mag. ASUNCIÓN A. CANO ECHEVARRÍA
 JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)



ACE/ddb

ANEXO 05

FORMATO DE RECOLECCIÓN DE LOS DATOS DE LA BACTERIA *PROPIONIBACTERIUM ACNES*

DATOS GENERALES:

COLECTA DE MATERIAL BIOLÓGICO:

Observaciones: Activación del inocuo *Propionibacterium acnes*





Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

Specifications Microorganism Name: <i>Propionibacterium acnes</i> Catalog Number: 0419 Lot Number: 419-158** Reference Number: ATCC® 11627™** Purity: Pure Passage from Reference: 2	Expiration Date: 2019/7/31 Release Information: Quality Control Technologist: Carol J Stanoch Release Date: 2017/9/1
---	---

Performance	
Macroscopic Features: Punctiform to small, white, opaque, glistening, circular colonies becoming larger and yellowish/tan as they age.	Medium: A/R SBAP
Microscopic Features: Small gram positive rods with branching.	Method: Gram Stain (1)

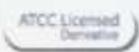
ID System: MALDI-TOF See attached ID System results document.	Other Features/ Challenges: Results (1) Nitrate (Broth): positive  Amanda Kuperus Quality Control Manager AUTHORIZED SIGNATURE
---	--

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

Note for Vitell®: Although the Vitell® panel uses many conventional tests, the unique environment of the card, combined with the short incubation period, may produce results that differ from published results obtained by other methods.

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

Individual products are traceable to a recognized culture collection.



(*) 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.

(†) These tests are accredited to ISO/IEC 17025:2005.



TESTING CERT #2655-01

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: Propionibacterium acnes
 Sample Description: 0419
 Sample ID: 419-158
 Sample Creation Date/Time: 2017-08-30T13:31:17.574 cs
 Applied MSP Library(ies): BDAL, Mycobacteria Library (bead method), Filamentous Fungi Library 1.0, Listeria

Sample Name	Sample ID	Organism (best match)	Score Value
G10 (+++)(A)	419-158	Propionibacterium acnes	2.58

Comments:

n/a