

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

"ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA IN VITRO DEL EXTRACTO
ETANÓLICO DE FRUTOS DE Physalis peruviana L. (Aguaymanto)
FRENTE A Streptococcus mutans ATCC 25175 Y Staphylococcus
aureus ATCC 25923"

# TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE QUÍMICO FARMACÉUTICO

#### **AUTORES:**

Bach. PAQUIYAURI CHIPANA, FIORELLA SOFIA <a href="https://orcid.org/0009-0008-6731-1934">https://orcid.org/0009-0008-6731-1934</a>

Bach. ROJAS TACURI, KINVER ISAMAR https://orcid.org/0009-0001-7739-3557

#### **ASESOR:**

Dr. RODRIGUEZ LICHTENHELDT, JOSÉ EDWIN <a href="https://orcid.org/0000-0003-1876-6496">https://orcid.org/0000-0003-1876-6496</a>

LIMA – PERÚ 2023

# AUTORIZACIÓN Y DECLARACIÓN JURADA DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD

Yo,\_Paquiyauri Chipana, Fiorella Sofia, con DNI <u>42961163</u>, en mi condición de autor(a) de la tesis/ trabajo de investigación/ trabajo académico presentada para optar el Título Profesional de "Químico Farmacéutico", AUTORIZO a la Universidad María Auxiliadora (UMA) para reproducir y publicar de manera permanente e indefinida en su repositorio institucional, bajo la modalidad de acceso abierto, el archivo digital que estoy entregando, en cumplimiento a la Ley N°30035 que regula el Repositorio Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación de acceso abierto y su respectivo Reglamento.

Asimismo, DECLARO BAJO JURAMENTO¹ que dicho documento es ORIGINAL con un porcentaje de similitud de 20 % y que se han respetado los derechos de autor en la elaboración del mismo. Además, recalcar que se está entregado la versión final del documento sustentado y aprobado por el jurado evaluador.

En señal de conformidad con lo autorizado y declarado, firmo el presente documento a los 10 días del mes de agosto del año 2023.

Jan -

Fiorella Sofia, Paquiyauri Chipana 42961163 Edula

Dr. Rodriguez Lichtenheldt, José Edwin 10734121

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> Se emite la presente declaración en virtud de lo dispuesto en el artículo 8°, numeral 8.2, tercer párrafo, del Reglamento del Registro Nacional de Trabajos conducentes a Grados y Títulos – RENATI, aprobado mediante Resolución de Consejo Directivo N° 033-2016-SUNEDU/CD, modificado por Resolución de Consejo Directivo N° 174-2019-SUNEDU/CD y Resolución de Consejo Directivo N° 084-2022-SUNEDU/CD.

# AUTORIZACIÓN Y DECLARACIÓN JURADA DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD

Yo,\_Rojas Tacuri, Kinver Isamar, con DNI 47967945, en mi condición de autor(a) de la tesis/ trabajo de investigación/ trabajo académico presentada para optar el Título Profesional de "Químico Farmacéutico", AUTORIZO a la Universidad María Auxiliadora (UMA) para reproducir y publicar de manera permanente e indefinida en su repositorio institucional, bajo la modalidad de acceso abierto, el archivo digital que estoy entregando, en cumplimiento a la Ley N°30035 que regula el Repositorio Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación de acceso abierto y su respectivo Reglamento.

Asimismo, DECLARO BAJO JURAMENTO<sup>2</sup> que dicho documento es ORIGINAL con un porcentaje de similitud de 20 % y que se han respetado los derechos de autor en la elaboración del mismo. Además, recalcar que se está entregado la versión final del documento sustentado y aprobado por el jurado evaluador.

En señal de conformidad con lo autorizado y declarado, firmo el presente documento a los 10 días del mes de agosto del año 2023.

Kinver Isamar, Rojas Tacuri Dr. Rodriguez Lichtenheldt, José E

Kinver Isamar, Rojas Tacuri 47967945 Dr. Rodriguez Lichtenheldt, José Edwin 10734121

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup> Se emite la presente declaración en virtud de lo dispuesto en el artículo 8°, numeral 8.2, tercer párrafo, del Reglamento del Registro Nacional de Trabajos conducentes a Grados y Títulos – RENATI, aprobado mediante Resolución de Consejo Directivo N° 033-2016-SUNEDU/CD, modificado por Resolución de Consejo Directivo N° 174-2019-SUNEDU/CD y Resolución de Consejo Directivo N° 084-2022-SUNEDU/CD.

# **TURNITIN 210723**

#### INFORME DE ORIGINALIDAD

INDICE DE SIMILITUD

FUENTES DE INTERNET PUBLICACIONES

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTE	S PRIMARIAS	
1	hdl.handle.net Fuente de Internet	10%
2	repositorio.uap.edu.pe	5%
3	1library.co Fuente de Internet	2%
4	core.ac.uk Fuente de Internet	2%
5	www.coursehero.com Fuente de Internet	1%
6	renati.sunedu.gob.pe	1%
7	www.scielo.org.bo	1 %
8	www.unica.edu.pe	1%

#### **DEDICATORIA**

A nuestros padres que con su adoración, persistencia y esfuerzo nos han permitido satisfacer otro sueño cumplido, gracias por impartir en mí el caso de esfuerzo y valentía, a no temer a la aflicción ya que Dios está conmigo en general.

A mis hermanos por su amor y respaldo irrestricto en el ínterin, por estar conmigo constantemente. A toda mi familia en vista de que con sus consejos y declaraciones edificantes me hicieron un individuo superior y de alguna manera, ellos van conmigo en todos nuestros sueños y metas.

#### **AGRADECIMIENTO**

A Dios que ha sido mi guía, fortaleza, su mano de confianza y amor me han acompañado hasta el día de hoy.

Mi profundo agradecimiento a todas las autoridades de la Universidad María Auxiliadora en especial a toda la Facultad de Farmacia Y Bioquímica, por confiar en nosotros, abrirnos las puertas y permitirnos realizar todo el proceso investigativo.

Finalmente quiero expresar mi más grande y sincero agradecimiento al Dr. Rodríguez Lichtenheldt José Edwin, principal colaborador durante todo este proceso de esta investigación, quien con su conocimiento y colaboración permitió el desarrollo y la finalización de este trabajo.

# **ÍNDICE GENERAL**

R	ESUMEN	vi
Α	BSTRACT	. vii
I.	INTRODUCCIÓN	1
II.	MATERIALES Y MÉTODOS	6
	II.1. Enfoque y diseño de la investigación	6
	II.2. Población, muestra y muestreo	6
	II.3. Variables de investigación	6
	II.4. Técnica e instrumento para la recolección de datos	7
	II.5. Plan metodológico para la recolección de datos	7
	II.6. Procesamiento del análisis estadístico	10
	II.7. Aspectos éticos	10
Ш	. RESULTADOS	11
	III.1. Prueba de solubilidad	11
	III.2. Marcha fitoquímica	12
	III.3. Ensayo microbiológico	13
	III.4. Porcentaje de rendimiento	18
I۷	Z. DISCUSIÓN	19
	IV.1. Discusión de resultados	19
	IV.2. Conclusiones	22
	IV.3. Recomendaciones	23
R	EFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	24
Λ.	NEVOS	21

# **ÍNDICE DE TABLAS**

<b>Tabla 1.</b> Prueba solubilidad del extracto etanólico de frutos de Physalis peruviar	าล
L. (Aguaymanto)	11
Tabla 2. Tamizaje fitoquímico	12
Tabla 3. Halos de inhibición de ensayo microbiológico Streptococcus mutans	
ATCC 25175 y Staphylococcus aureus ATCC 25923	13
Tabla 4. Estadísticos descriptivos de los resultados del ensayo microbiológico	14
Tabla 5. Comparación de medias por el ANOVA	15
Tabla 6. Comparaciones múltiples por la prueba de Tukey	16

# **ÍNDICE DE FIGURAS**

Figura	1. Physalis peruviana L. (Aguaymanto)	46
Figura	2. Selección y limpieza	46
Figura	3. Lavado de la muestra	46
Figura	4. Trozado de la muestra	47
Figura	5. Procedimiento de secado de la muestra	47
Figura	6. Proceso de molienda	47
Figura	7. Preparación del macerado del extracto etanólico	48
Figura	8. Proceso de filtración	48
Figura	9. Proceso de obtención de extracto seco	49
Figura	10. Obtención de extracto seco	49
Figura	11. Añadiendo extracto seco al tubo de ensayo	50
Figura	12. Agitación con el vortex	50
Figura	13. Resultado de prueba de solubilidad	50
Figura	14. Adición de extracto a los tubos de ensayo	51
Figura	15. Adición del reactivo en la marcha fitoquímica	51
Figura	16. Resultado de la marcha fitoquímica	51
Figura	17. Pesado del Agar	52
Figura	18. Autoclave para el uso en la prueba microbiológica	52
Figura	19. Agar Mueller Hinton	52
Figura	20. Placas preparadas	53
Figura	21. Cepa biológica de tipo: Streptococcus mutans	53
Figura	22. Cepa biológica de tipo: Staphylococcus aureus	53
Figura	23. Comparación de turbidez mediante el reactivo de Mac. Farland	54
Figura	24. Rotulado de placas	54
Figura	25. Sembrado de la cepa biológica en las placas	54
Figura	26. Realizando pozos en agar con ayuda de un sacabocado	55
Figura	27. Sustancias experimentales y controles	55
Figura	28. Adición de la sustancia experimental en la placa Petri	55
Figura	29. Incubación	56
Figura	30. Placas Petri con halos de inhibición	56
Figura	31. Lectura de resultados	56

#### RESUMEN

**Objetivo:** Determinar la actividad antibacteriana in vitro del extracto etanólico del fruto de *Physalis peruviana L.* (Aguaymanto) frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Materiales y métodos: Investigación de diseño experimental, explicativo, cuantitativo, población de 10 kilos de frutos de *Physalis peruviana L.* (Aguaymanto) y cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 por otro lado, la muestra estuvo constituida por 4 kg de frutos de *Physalis peruviana L.* y la muestra biológica usada fueron las placas Petri. El procedimiento fitoquímico fue el tamizaje fitoquímico, se utilizó 1 mL de extracto seco en los 12 tubos de ensayos según la metodología de Olga Lock y el método microbiológico usado fue el de difusión en agar Mueller Hinton y estuvo constituida de los grupos experimentales al 15%, 50% y 85%, grupo control, ciprofloxacino 5 μg, Clorhexidina y Dimetilsulfoxido (DMSO).

**Resultados:** Los metabolitos secundarios que se detectaron en la prueba del tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico de los frutos de *Physalis peruviana L.* (Aguaymanto) fueron alcaloides, lactonas α, β-insaturadas, compuestos fenólicos, terpenos y esteroides, alcaloides, taninos y flavonoides. Por otro lado, mediante la prueba de ANOVA (p<0,05) y Tukey, se demostró como resultado diferencia estadísticamente significativa entre los grupos experimentales al 15 %, 50 % y 85 % comparado con el control (DMSO) frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

**Conclusión:** El extracto etanólico del fruto de Physalis peruviana L. (Aguaymanto) presentó efecto antibacteriano frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

**Palabras clave:** *Physalis peruviana L.* (Aguaymanto), antibacteriano; extracto etanólico.

**ABSTRACT** 

**Objective:** To determine the in vitro antibacterial activity of the ethanolic extract of

the fruit of Physalis peruviana L. (Aguaymanto) against Streptococcus mutans

ATCC 25175 and Staphylococcus aureus ATCC 25923.

Materials and methods: Investigation of experimental, explanatory, quantitative

design, population of 10 kilos of fruits of *Physalis peruviana L.* (Aguaymanto) and

strains of Streptococcus mutans ATCC 25175 and Staphylococcus aureus ATCC

25923 on the other hand, the sample consisted of 4 kg of fruits of Physalis peruviana

L. and the biological sample used were Petri dishes. The phytochemical procedure

was the phytochemical screening, 1 mL of dry extract was obtained in the 12 test

tubes according to the Olga Lock methodology and the microbiological method used

was the diffusion method in Mueller Hinton agar and it was made up of the

experimental ones at 15%, 50% and 85%, control group, ciprofloxacin 5 µg,

Chlorhexidine and Dimethyl Sulfoxide (DMSO).

Results: The secondary metabolites that were detected in the phytochemical

screening test of the hydroalcoholic extract of the fruits of Physalis peruviana L.

(Aguaymanto) were alkaloids,  $\alpha$ ,  $\beta$ -unsaturated lactones, phenolic compounds,

terpenes and steroids, alkaloids, tannins and flavonoids. On the other hand, using

the ANOVA test (p<0.05) and Tukey, a statistically significant difference was

produced between the experimental groups at 15%, 50% and 85% compared to the

control (DMSO) against Streptococcus mutans ATCC 25175 and Staphylococcus

aureus ATCC 25923.

Conclusion: The ethanolic extract of the fruit of Physalis peruviana L.

(Aguaymanto) had an antibacterial effect against Streptococcus mutans ATCC

25175 and Staphylococcus aureus ATCC 25923.

**Keywords:** *Physalis peruviana L.* (Aguaymanto), antibacterial, ethanolic extract.

vii

## I. INTRODUCCIÓN

Las infecciones de origen bacteriano forman un amplio grupo de patologías que afecta a toda la población global, estas se dan cuando el patógeno llega a un lugar que usualmente no habita, al producirse una herida expuesta, al ingerir alimentos contaminados, etc.<sup>1</sup>

Una de las más importantes cepas es el *Staphylococcus aureus*, debido a que es el principal agente etiológico de infecciones respiratorias como la neumonía, así como de bacteriemia intrahospitalaria, el cual ocasiona la muerte del 30 % de pacientes por año, mientras que en los Estados Unidos el número de muertes es de 20 000 por año², otro reporte en dicho país indico que en el año 2017 se reportaron 119 247 casos de infecciones sanguíneas por esta bacteria como consecuencia murieron 19 832 personas³. En China es una de las bacterias con mayor resistencia a los antibióticos y tiene una prevalencia del 69 %⁴, en España el 29, 3 % de pacientes presenta la variante resistente la cual es *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina⁵ y en Grecia se aisló este microorganismo en el 57, 8 % de muestras de alimentos, de las cuales en el 99, 9 % se halló que era resistente a un fármaco mientras que en más del 13 % fueron resistentes a múltiples fármacos, dicho estudio declaro que la contaminación microbiológica se debía a errores ocasionados durante las labores de producción de estos alimentos.6

Otra bacteria de igual relevancia y causante de caries dental es el *Streptococcus mutans*, este microrganismo afecta de manera mayoritaria a niños en edad escolar, así como adultos<sup>7</sup>. En India esta se ha aislado en el 27, 5 % de muestras de caries de la primera infancia y en el 42, 5 % de muestras de caries severas<sup>8</sup>, en Irán más del 77 % de la población presenta a esta bacteria y el 9,8 % se encuentra en asociación con otros microrganismos<sup>9</sup>, en Estados Unidos afecta al 72,7 % de niños preescolares.<sup>10</sup>

En el Perú, un estudio realizado en un hospital de Lima identifico que el 46,1 % de aislamientos de *Staphylococcus aureus* presentaban resistencia a los antibióticos<sup>11</sup>, por otro lado, en un hospital de Piura se reportó que el 16,8 % de los trabajadores era portador de esta bacteria y el 82 % de la variante resistente.<sup>12</sup> Mientras que

para *Streptococcus mutans*, el Ministerio de Salud en el año 2019 informó que aproximadamente el 90, 4 % de peruanos sufre de caries dentales.<sup>13</sup>

En ambas especies bacterianas se han reportado la resistencia que poseen ante diferentes antibióticos como a los carbapenémicos, clindamicina, eritromicina, entre otros. Ante ello se están evaluando tratamientos novedosos como el uso de bacteriófagos el cual se ha estado presentando como un tratamiento seguro y eficaz, pero el cual aún no se encuentran disponibles en el Perú y que además no estaría al alcance de todas aquellas personas que lo requieran.<sup>14–16</sup>

Es por ello que los productos naturales figuran como una alternativa eficaz para el tratamiento antibacteriano, ya que muchas especies presentan fitoconstituyentes como los compuestos fenólicos los cuales han demostrado inhibir el crecimiento de cepas bacterianas.<sup>17</sup> Ante lo mencionado en párrafos anteriores, es urgente y necesario evaluar nuevos tratamientos como lo sugiere la Organización Mundial de la Salud (OMS), que menciona que para combatir este problema de salud pública se debe invertir en investigaciones en el descubrimiento de nuevas moléculas terapéuticas.<sup>18</sup>

El aguaymanto (*Physalis peruviana L.*) también conocido como uchuva pertenece a la familia de Solanaceae, por lo tanto, presenta características en común con otras especies como la papa o el tomate, a pesar que su crecimiento es arbustivo<sup>19</sup>. Esta en una planta que crece en países como Colombia, México, Kenia y Perú, ya que para su crecimiento necesita de climas tropicales e incluso templados y de preferencia a alturas entre los 1500 a 3000 m.s.n.m.<sup>20</sup> En el Perú crece en los departamentos de Ancash, Cajamarca, Lambayeque, Ayacucho, Cusco, Junín, Huánuco, etc.<sup>21</sup> El fruto de esta especie vegetal se caracteriza por su alto contenido de vitamina C pero además de otros fitoconstituyentes como beta caroteno, compuestos fenólicos y withanólidos principalmente<sup>22</sup>, los cuales son los principales candidatos de efectuar las diversas actividades terapéuticas que presenta como por ejemplo hipoglucemiante, hipolipemiante, anticancerígeno, antioxidante, neuroprotector, antiinflamatorio, antihipertensivo y hepatoprotector.<sup>23</sup>

Staphylococcus aureus pertenece al grupo de bacterias grampositivas, tiene forma de cocos y se agrupa bajo la forma de "racimo de uvas". Cuando se cultiva las colonias son de color doradas o amarillas; este microrganismo presenta crecimiento facultativo y se puede identificar de otras especies de su género porque es catalasa positiva, coagulasa positiva, sensible a novobiocina y fermenta el manitol.<sup>24</sup> Esta bacteria forma parte de la microbiota nasal en el 20 a 40 % de la población mundial pero puede causar infecciones severas al entrar al torrente sanguíneo a través de heridas expuestas<sup>25</sup>, estas infecciones pueden atacar los tejidos blandos, además de provocar neumonía, endocarditis, osteomielitis, etc.<sup>26,27</sup> El tratamiento antibiótico contra esta bacteria actualmente ha perdido eficacia debido a la presencia de la cepa resistente a meticilina, la cual es resistente a una amplia gama de antibióticos betalactámicos.<sup>28</sup>

Streptococcus mutans es una bacteria grampositiva que habita en la cavidad bucal de los humanos y es el principal agente etiológico de las caries dentales, esto se debe a que metaboliza los carbohidratos provenientes de los alimentos para crear las condiciones necesarias en el ambiente para su proliferación ocasionando daños severos en el esmalte dental. El tratamiento estándar es la clorhexidina un antiséptico con propiedades antibacterianas que con el transcurso del tiempo ha ido perdiendo eficacia por lo que esta bacteria se ha vuelto resistente a esta sustancia.<sup>29–31</sup>

Entre los antecedentes internacionales están los estudios de:

**Li Q, et al.** (2022), evaluaron la actividad antibacteriana de *P. peruviana L.* frente a *Escherichia coli*, *Bacillus cereus* y *Staphylococcus aureus*, para ello elaboraron un extracto etanólico y utilizaron la fracción de acetato de etilo el cual fue analizado por la técnica de cromatografía liquida de alta resolución, como resultados hallaron moléculas llamadas withanólidos, las cuales no fueron eficaces contra *E. coli*, pero si contra las bacterias grampositivas, concluyendo que presenta efecto antibacteriano.<sup>32</sup>

**Mokhtar S, Mohamed H, Ali A (2019)**, analizaron la actividad antibacteriana del extracto etanólico de *P. peruviana L.* en sinergismo con el extracto acuoso de *Hyphaene thebaica* frente a enterobacterias y bacterias grampositivas como *S. aureus*, para lo cual utilizaron la técnica de difusión en pozos, como resultados

obtuvieron que *S. aureus* y *E. coli* fueron las bacterias más sensibles en el ensayo realizado, concluyendo la efectividad de estas sustancias en la inhibición de estas bacterias.<sup>33</sup>

**Salas S (2017)**, evaluó el efecto antibacteriano del aceite esencial de aguaymanto frente a *S. mutans* ATCC 35668, para ello utilizo la técnica de arrastre por vapor y las concentraciones al 25, 50, 75 y 100 % del aceite obtenido, como resultados hallo que las concentraciones al 75 y 100 % fueron las más efectivas contra el patógeno en estudio, concluyendo que existe efecto antibacteriano.<sup>34</sup>

Como antecedentes nacionales tenemos:

**Chacaltana L y Huayanca I (2017)**, evaluaron la actividad antibacteriana del extracto etanólico del fruto de aguaymanto frente a *S. aureus*, *E. coli y P. aureginosa*, para ello se utilizó la técnica de difusión en disco y se trabajó con las concentraciones al 5, 10, 25, 50, 75 y 100 % del extracto, como resultados hallaron que la concentración al 100 % produjo halos de 34 y 36 mm para *E. coli y S. aureus* respectivamente mientras que al 75 % produjo un halo de 37 mm para *P. aureginosa*, concluyendo que el extracto del fruto presenta efecto antibacteriano.<sup>35</sup>

Vargas R (2019), analizo la composición fitoquímica de los frutos del aguaymanto, para lo cual utilizaron la técnica de maceración para realizar la extracción de los frutos junto con etanol al 96 % y el método de Olga Lock para realizar el análisis fitoquímico preliminar, como principales resultados hallo que el extracto tuvo la presencia de flavonoides, alcaloides, taninos y carbohidratos.<sup>36</sup>

**Uriol D y Espinoza M (2021)**, determinaron la actividad antibacteriana de los extractos hidroalcohólicos de los frutos de aguaymanto frente a *S. aureus* resistente a oxacilina, en su estudio trabajaron con las concentraciones al 40, 70 y 100 % y utilizaron la técnica de difusión en disco, como resultado principal hallaron que hubo diferencia estadísticamente significativa (p<0,001) entre las concentraciones preparadas frente al control positivo. Concluyendo que el extracto en estudio no fue superior al control utilizado.<sup>37</sup>

La justificación teórica será aportar conocimiento científico sobre los beneficios terapéuticos del fruto de *Physalis peruviana L.*, ya que a nivel nacional como internacional la información publicada sobre esta fruta es muy limitada o se encuentra desactualizada. Otra razón para brindar este reconocimiento es evitar el riesgo de perder su material genético<sup>38</sup> a causa de la deforestación y la falta de conocimiento de la población peruana, sobre todo en aquellas regiones donde habita. En el ámbito practico se pretende incentivar a otros estudiantes de la carrera de farmacia y bioquímica en la investigación de este producto natural, el cual podría ser fuente de una nueva gama de moléculas con capacidad antibacteriana lo que permitiría sintetizar un nuevo grupo de medicamentos antibióticos y finalmente las técnicas que se emplearan durante los análisis fitoquímicos y microbiológicos se encuentran validados en otros estudios de similar interés.

El objetivo general del presente estudio será:

Determinar la actividad antibacteriana in vitro del extracto etanólico del fruto de *Physalis peruviana L.* (Aguaymanto) frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

La hipótesis general del estudio corresponde:

El extracto etanólico del fruto de *Physalis peruviana L.* (Aguaymanto) presenta actividad antibacteriana frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

## II. MATERIALES Y MÉTODOS

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

El enfoque fue cuantitativo, ya que se realizaron mediciones con las cuales se pueden obtener tendencias y contrastar hipótesis.<sup>39</sup>

Diseño experimental, debido a que se manipularon la variable independiente para ver su efecto en la variable dependiente<sup>39</sup> y además explicativo porque permitió hallar la causalidad de los eventos analizados.<sup>40</sup>

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

La población vegetal estuvo conformada por 10 kilos de frutos de *Physalis* peruviana L. (Aguaymanto), procedente del Centro poblado Condoray, distrito de Tambillo, provincia de Huamanga y departamento de Ayacucho, ubicado a 3 064 m s. n. m. con coordenadas de 13°11′40.45″ S, 74°6′39.41″ W.

Por otro lado, la población biológica estuvo conformada por *Streptococcus mutans* ATCC 25175 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

La muestra vegetal fue de 4 kg de frutos de *Physalis peruviana L.* (Aguaymanto).

#### Criterios de inclusión:

- Frutos con el color característico de la especie vegetal
- Frutos maduros

#### Criterios de exclusión:

- Frutos que presenten contaminación microbiana
- Frutos que se encuentren en estado de descomposición
- Frutos con señales de golpes o abolladuras
- Frutos con presencia de insectos

El muestreo fue de tipo no probabilístico por intención.

#### II.3. Variables de investigación

Variable Independiente: Extracto etanólico del fruto de *P. peruviana L.* (Aguaymanto).

<u>Definición conceptual:</u> Fracción liquida obtenida por maceración etanólica, extraído del fruto de aguaymanto <sup>41</sup>.

<u>Definición operacional:</u> Concentración del extracto etanólico del fruto de *P. peruviana L.* (Aguaymanto).

*Variable dependiente:* Efecto antibacteriano in vitro frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

<u>Definición conceptual:</u> Es la cualidad que tiene una especifica sustancia química para impedir la proliferación de bacterias mediante diversos mecanismos moleculares<sup>42</sup>.

<u>Definición operacional:</u> Sensibilidad bacteriana frente al extracto etanólico del fruto de *P. peruviana L.* (Aguaymanto).

#### II.4. Técnica e instrumento para la recolección de datos

La técnica que se utilizó fue la observación y el instrumento en uso fue la ficha de observación, en la cual se almacenó los datos obtenidos durante los diversos análisis empleados.<sup>43</sup>

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

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

La recolección de los frutos de *Physalis peruviana L.* (Aguaymanto) se realizó en el Centro poblado Condoray, distrito de Tambillo, provincia de Huamanga y departamento de Ayacucho, este procedimiento se llevó a cabo llevando la indumentaria necesaria como guantes y tijeras para evitar dañar el fruto, luego se procedió a trasladarlos a Lima a través de una caja de tecnopor debidamente acondicionada. <sup>36</sup>

La identificación taxonómica se llevó a cabo por un especialista en la identificación de especies vegetales, el cual emitió la certificación correspondiente.

#### II.5.2. Preparación de la muestra vegetal

La selección de los frutos se realizó en el laboratorio biológico Santa Rosa, según en los criterios de exclusión e inclusión previamente redactados, después se procedió a retirar los calices a los frutos que los tengan, luego los frutos fueron lavados con agua potable a chorro y se dejaron secar al ambiente por un tiempo de 15 minutos, finalmente los frutos se llevaron a la estufa a 40°C por 72 horas, hasta obtener el fruto desecado y se trituró para realizar el proceso de extracción. <sup>36</sup>

#### II.5.3. Preparación del extracto

La extracción se realizó según la técnica de maceración para lo cual se utilizó 600 gr. de la muestra seca del fruto *Physalis peruviana L.* (Aguaymanto) y 1200 mL de etanol al 96 %, todo junto en envase de boca ancha y protegido de la luz, este proceso se llevó a cabo por 5 días. Al terminar el tiempo establecido se filtró el líquido obtenido a través de un papel filtro Whatman N° 01. Al término de este proceso la muestra final se colocó en placas Petri y fueron llevadas a la estufa a 40°C por 72 horas para obtener el extracto seco. <sup>36</sup>

#### II.5.4. Porcentaje de rendimiento

Se utilizara la siguiente fórmula.44

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

#### Leyenda:

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

#### II.5.5. Prueba de solubilidad

En el análisis de solubilidad se utilizó 1 g del extracto seco y 1 mL de los siguientes solventes Éter de petróleo, diclorometano, cloroformo, butanol, etanol, metanol, agua destilada y dimetilsulfoxido.<sup>45</sup>

#### II.5.6. Marcha fitoquímica del extracto

En el tamizaje fitoquímico se utilizó 1mL de extracto en diferentes tubos de ensayos según la metodología de Olga Lock, para ello se realizaron las siguientes pruebas<sup>46</sup>:

Prueba de Baljet (Lactonas  $\alpha$ ,  $\beta$  insaturadas), prueba de Dragendorff, Wagner y Mayer (alcaloides), prueba de Gelatina-sal y Gelatina (taninos), prueba de NaOH 10 % (antocianinas), prueba de Cloruro férrico (compuestos fenólicos), Prueba de Shinoda (flavonoides), prueba de Liebermann-Burchard (triterpenos y esteroides), prueba de Índice Afro simétrico (saponinas) y prueba de Borntrager (quinonas).

#### II.5.7. Análisis Microbiológico

La activación de las cepas ATCC se realizaron utilizando el Kwik-stik microbiologics®, este producto posee en la parte interior el líquido hidratante el cual se liberó a romper la ampolla en la parte superior del producto. Esto se realizó con la finalidad de que dicho liquido descienda hacia la parte que contiene el granulo, el proceso se completó al agitar la parte inferior para homogenizar la suspensión. De manera inmediata se utilizó un hisopo estéril y se sumergió sobre la suspensión obtenida para realizar el sembrado en agar Mueller Hinton para *Staphylococcus aureus* ATCC 25175 y *Streptococcus mutans* ATCC 25923 respectivamente. Luego fueron incubadas a 37°C por 24 horas.<sup>47,48</sup>

Luego de la activación de la cepa se realizó una suspensión directa la cual se ajustó comparándola de manera visual con el estándar de McFarland previamente realizado. Al finalizar este proceso se llevó a cabo el sembrado de las cepas en agar Mueller Hinton, para el caso de *Streptococcus mutans* 

ATCC 25923, esta se sembró en agar Mueller Hinton enriquecido con sangre de cordero.<sup>48</sup>

La preparación de los pozos con un diámetro de 6 mm con las sustancias a utilizar se elaboró a partir del uso de un sacabocado de acero inoxidable estéril, las sustancias experimentales serán<sup>48</sup>:

- 1. Pozo con extracto del fruto de *P. peruviana L.* al 15 %.
- 2. Pozo con extracto del fruto de *P. peruviana L.* al 50 %.
- 3. Pozo con extracto del del fruto de *P. peruviana L.* al 85 %.
- Discos de ciprofloxacino 5 μg
- 5. Pozo con Clorhexidina
- Pozo con Dimetilsulfóxido

Finalmente, las placas se colocaron en la estufa a 37°C de 24 a 48 horas, para el caso de *S. mutans* este se incubó en un ambiente con una atmosfera de CO<sub>2</sub> para obtener el crecimiento adecuado de las cepas. La medición de los halos de inhibición se realizaron con el uso de un vernier y de manera comparativa se midieron según la escala de Duraffourd.<sup>48</sup>

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

Los datos obtenidos del ensayo microbiológico fueron analizados estadísticamente mediante las pruebas de ANOVA de una vía y el test de Tukey, para lo cual se consideraron como nivel de significancia (p<0,05) y un nivel de confiabilidad del 95 %; estas pruebas se realizaron en el programa Statistical Package for Social Sciences – SPSS versión 27.

#### II.7. Aspectos éticos

El proyecto de investigación no trabajó con seres humanos o animales por lo cual se declaró que no existe ningún conflicto de interés bioético, por otro lado, se trabajó siguiendo todos los lineamientos de bioseguridad con la finalidad de proteger a los mismos investigadores y al medio ambiente.

## III. RESULTADOS

#### III.1. Prueba de solubilidad

**Tabla 1.** Prueba solubilidad del extracto etanólico de frutos de *Physalis peruviana L.* (Aguaymanto)

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

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

El extracto etanólico de los frutos de *Physalis peruviana L.* (Aguaymanto) fue muy soluble en Etanol 96 y dimetilsulfoxido; medianamente soluble en agua destilada y poco soluble en metanol e insoluble para solventes apolares.

### III.2. Marcha fitoquímica

Tabla 2. Tamizaje fitoquímico

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

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

En la tabla 2 se evidenció Abundante presencia en las pruebas de Dragendorff, Baljet, hallando lo siguiente: alcaloides, lactonas  $\alpha$ ,  $\beta$ -insaturadas, mínima presencia en las pruebas de Cloruro férrico, Liebermann-Burchard, Mayer, Wagner, Gelatina, Gelatina-sal y Shinoda encontrando: compuestos fenólicos, terpenos y esteroides, alcaloides, taninos y flavonoides, ausencia de presencia para las pruebas de Borntrager, NaOH 10% y espuma.

#### III.3. Ensayo microbiológico

**Tabla 3.** Halos de inhibición de ensayo microbiológico *Streptococcus mutans*ATCC 25175 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

#### Diámetros de inhibición en mm

Microorganismo	85%	50%	15%	Clorhexidina	DMSO
	18.54	14.65	9.12	20.48	6
Streptococcus	18.55	14.60	9.10	20.45	6
mutans	18.26	14.62	9.11	19.80	6
ATCC 25175	18.58	14.63	9.11	20.46	6
	18.50	14.65	9.10	19.99	6
Media	18.49	14.63	9.11	20.24	6
Microorganismo	85%	50%	15%	Ciprofloxacino	DMSO
	12.13	6	6	35.07	6
Staphylococcus	12.11	6	6	34.80	6
aureus	12.13	6	6	35.10	6
ATCC 25923	12.14	6	6	35.15	6
	12.12	6	6	34.98	6

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

El resultado del análisis antibacteriano indicó que el mayor halo presentó el grupo Clorhexidina 20.24 mm sobre *Streptococcus mutans*. No obstante, el extracto etanólico de los frutos de *Physalis peruviana L*. (Aguaymanto) al 85% reveló un halo de inhibición medio de 18,49 mm, seguido de los extractos al 50% y 15% con 14,63 y 9,11 respectivamente.

<sup>\*</sup>Concentración del inoculo: 1.5 x 108 UFC/mL

Por otra parte, el ensayo frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 evidenció que el mayor halo de inhibición medio lo produjo el Ciprofloxacino con 35,02 mm. Asimismo el extracto etanólico de los frutos de Aguaymanto al 85 % mostró un halo de inhibición medio de 12,13 mm., seguido de los extractos al 50 % y 15 % sin halo de inhibición.

Tabla 4. Estadísticos descriptivos de los resultados del ensayo microbiológico

Estadísticos	Streptococcus mutans ATCC 25175	Staphylococcus aureus ATCC 25923
Media	13,6920	13,0292
Error estándar de la media	1,10665	2,29611
Mediana	14,6300	6,0000
Moda	6,00	6,00
Desv. Desviación	5,53326	11,48056
Varianza	30,617	131,803
Asimetría	-,212	1,436
Error estándar de asimetría	,464	,464
Curtosis	-1,609	,301
Error estándar de curtosis	,902	,902
Rango	14,48	29,15

En la tabla 4 se evidenció la estadística descriptiva con un 95% de intervalo de confianza para las medidas de tendencia central (media, mediana, moda) y medidas de dispersión (rango, desviación estándar, varianza).

Tabla 5. Comparación de medias por el ANOVA

		Suma de	gl	Media	F	Sig.
		cuadrados		cuadrática		
Streptococcus	Entre	734,331	4	183,583	7724,5	0,000
mutans ATCC 25175	grupos Dentro de grupos	0,475	20	0,024	93	
	Total	734,806	24			
Staphylococcus	Entre grupos	3163,200	4	790,800	207232	0,000
aureus ATCC 25923	Dentro de grupos	0,076	20	0,004		
	Total	3163,276	24			

En la tabla 5, se demostró un p<0,05 en los resultados del análisis antimicrobiano. Esto demuestra que hay diferencias estadísticas de los halos de inhibición medio de todos los grupos (experimentales y controles) en el ensayo microbiológico según el estadístico ANOVA.

Tabla 6. Comparaciones múltiples por la prueba de Tukey

(I) Grupo	Grupo Diferencia de Desv. medias (I-J) Error	Diferencia de	Desv.	0:	Intervalo de confianza al 95%	
		Error	Sig.	Límite inferior	Límite superior	
	DMSO	14,23600 <sup>*</sup>	0,09750	0,000	13,9442	14,5278
Clorhevidina	15%	11,12800*	0,09750	0,000	10,8362	11,4198
Ciomexidina	50%	5,60600*	0,09750	0,000	5,3142	5,8978
	85%		0,09750	0,000	1,4582	2,0418
DMSO	Clorhexidina		0,09750	0,000	-14,5278	-13,9442
	15%	-3,10800 <sup>*</sup>	0,09750	0,000	-3,3998	-2,8162
	50%	-8,63000*	0,09750	0,000	-8,9218	-8,3382
	85%		0,09750	0,000	-12,7778	-12,1942
Ciprofloxacino	DMSO		0,03907	0,000	28,9031	29,1369
	15%		0,03907	0,000	28,9031	29,1369
	50%		0,03907	0,000	28,9031	29,1369
	85%		0,03907	0,000	22,7771	23,0109
DMSO -	Ciprofloxacino		0,03907	0,000	-29,1369	-28,9031
	15%	0,00000	0,03907	1,000	-,1169	0,1169
	50%	0,00000	0,03907	1,000	-,1169	0,1169
	85%	-6,12600 <sup>*</sup>	0,03907	0,000	-6,2429	-6,0091
	Clorhexidina  DMSO  Ciprofloxacino  DMSO	Clorhexidina       DMSO         15%       50%         85%       Clorhexidina         15%       50%         85%       DMSO         Ciprofloxacino       15%         50%       85%         Ciprofloxacino       15%         50%       50%         85%       Ciprofloxacino         15%       50%         85%       50%	DMSO	DMSO	DMSO	(I) Grupo         (J) Grupo medias (I-J)         Error medias (I-J)         Error inferior           Clorhexidina         DMSO         14,23600*         0,09750         0,000         13,9442           15%         11,12800*         0,09750         0,000         10,8362           50%         5,60600*         0,09750         0,000         5,3142           85%         1,75000*         0,09750         0,000         1,4582           DMSO         15%         -3,10800*         0,09750         0,000         -14,5278           85%         -3,10800*         0,09750         0,000         -3,3998           50%         -8,63000*         0,09750         0,000         -3,3998           85%         -12,48600*         0,09750         0,000         -12,7778           Ciprofloxacino         29,02000*         0,03907         0,000         28,9031           50%         29,02000*         0,03907         0,000         28,9031           50%         29,02000*         0,03907         0,000         22,7771           Error         0,03907         0,000         -29,1369           0,00000         0,03907         0,000         -29,1369

En la tabla 6, se evidenció que los valores de significancia asintótica bilateral son menores al 0.05 en las comparaciones entre los extractos etanólicos de los frutos de *Physalis peruviana L*. (Aguaymanto) al 15%, 50% y 85% frente al grupo negativo (DMSO) en el ensayo microbiológico con el *Streptococcus mutans* ATCC 25175, esto hizo constancia de que existió diferencias estadísticamente significativas entre el dimetilsulfoxido y los grupos experimentales, el cual evidencia que los grupos experimentales presentan efecto inhibidor frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175, de igual importancia se presentaron diferencias estadísticas entre los grupos experimentales y el grupo clorhexidina, favoreciendo al grupo positivo el cual muestra que los grupos en investigación no superan a la clorhexidina.

Por otro lado, frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 se evidenció que los valores de significancia asintótica bilateral fueron menores al 0.05 en las comparaciones entre los extractos etanólicos de frutos de *Physalis peruviana L.* (Aguaymanto) al 85% frente al grupo negativo (DMSO) en el ensayo microbiológico, esto hizo constancia de que existió diferencias estadísticamente significativas entre el dimetilsulfoxido y el grupo experimental, el cual evidencia que presentan efecto inhibidor frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, sin embargo el p valor es mayor al 0.05 en las concentraciones del 15% y 50% evidenciando que no existen diferencias estadísticas el cual muestra que no posee actividad antibacteriana.

De igual importancia se presentaron diferencias estadísticas entre los grupos experimentales y el grupo ciprofloxacino, favoreciendo al grupo positivo el cual muestra que los grupos en investigación no superan al fármaco de referencia.

#### III.4. Porcentaje de rendimiento

#### Determinación del porcentaje de rendimiento

Tenemos la cantidad de producto obtenido en la extracción química.

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

Dónde: %E = porcentaje de rendimiento

Pf = peso final (extracto seco)

Pi = peso inicial (muestra molida)

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

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

#### Extracción por maceración

$$%E = 55.6 \ g \ x \ 100 = 9.3\%$$
  
 $600g$ 

Pf= 55.6g gr extracto seco obtenido

Pi = 600 gr. muestra molida

## IV. DISCUSIÓN

#### IV.1. Discusión de resultados

En todo el mundo, la medicación tradicional con plantas medicinales sigue siendo fundamental de la prestación de servicios médicos, sobre todo en los países en desarrollo, o su complemento, entre ellos se encuentra el Perú. <sup>49</sup> Por tal motivo, este estudio tuvo como finalidad determinar la actividad antibacteriana in vitro del extracto etanólico del fruto de *Physalis peruviana L.* (Aguaymanto) frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

El primer ensayo fue la prueba de solubilidad, los resultados mostraron que el extracto etanólico del fruto de Aguaymanto fue muy soluble en Etanol 96 y dimetilsulfóxido, medianamente soluble en agua destilada y poco soluble en metanol, debido a su polaridad, semejanza química y tamaño estructural, esto coincidió con el estudio de Recharte, C (2018) quién realizó el ensayo de solubilidad de los frutos de *Physalis peruviana L.*, el cual evidenció resultados positivos para los solventes alcohólicos y de naturaleza polar como el etanol, dimetilsulfóxido y agua respectivamente. <sup>50</sup>

Por otro lado, respecto al tamizaje fitoquímico fueron los alcaloides, lactonas  $\alpha$ ,  $\beta$ -insaturadas, los de abundante presencia; empleando la metodología de Olga Lock, estos resultados guardan relación con el estudio de Vargas, R (2019) quien realizó el tamizaje fitoquímico del extracto de los frutos de *Physalis peruviana L.* (Aguaymanto), mostrando resultados positivos para alcaloides, flavonoides, saponinas, azúcares reductores, taninos y carbohidratos a pesar de que se muestran resultados semejantes, los estudios tuvieron diferencias de acuerdo al uso del tipo de solvente para la maceración, el cual corresponde agua destilada, no obstante, estas diferencias no alteraron en la existencia de la actividad antibacteriana.

De igual importancia, respecto al ensayo microbiológico in vitro para evaluar la actividad antibacteriana del extracto etanólico de los frutos de

Physalis peruviana L. (Aguaymanto) a concentraciones del 15%, 50% y 85% frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175, se evidenció que el extracto al 85% generó un halo de inhibición medio de 18,49 mm, seguido de los extractos al 50% y 15% con 14,63 y 9,11 respectivamente, esto demostró que los 3 grupos experimentales presentaron diferencias estadísticamente significativas (p<0.05) para las pruebas estadísticas de ANOVA y Tukey, y según la escala de Duraffourd esta cepa bacteriana es sensible para el extracto al 15% y muy sensible para el 50% y 85%, el cual se demuestra su actividad antibacteriana.

Esto coincide con el estudio de Huertas, M (2016) quien evaluó el efecto antibacteriano de *Physalis peruviana L.* frente a *S. mutans* quien obtuvo halos de 19.5 mm "Muy sensibles". <sup>51</sup>

De igual importancia, los resultados hallados difieren de la investigación de Salas, S (2017) con los resultados del presente estudio al haberse obtenido halos inhibición de 12.40 mm a la concentración del 100% y 9.27 mm al 75% sobre las cepas *Streptococcus mutans*, Categorizándolos según la escala de Duraffourd solo como "Sensibles". Esto indicó que en ambas investigaciones la clorhexidina tuvo un predominante mayor halo de inhibición. <sup>34</sup>

Por otro lado, en el ensayo frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 se evidenció que el extracto al 85% presentó un halo de inhibición medio de 12,13 mm., seguido de los extractos al 50 % y 15 % sin halo de inhibición y según la escala de Duraffourd esta cepa bacteriana es nulo para el extracto al 15%, 50% y sensible para el 85%, el cual demuestra que solo la concentración del 85% presentó actividad antibacteriana frente la cepa en estudio.

Difiere del estudio Mokhtar S et al (2019), el cual determinó la actividad antibacteriana del extracto etanólico de *Physalis peruviana L.* frente a enterobacterias y bacterias grampositivas que presentó con extracto de etanol 70% el cual presentó un amplio espectro antibacteriano y todos los patógenos fueron susceptibles al etanol 70% a diferentes concentraciones, excepto *Salmonella enterica* al 10 y al 30% y *Proteus* 

*mirabilis* al 10% de concentración, mientras que los patógenos grampositivos mostraron su sensibilidad al extracto de etanol (70%) de 10 a 23 mm. zonas de inhibición y el más afectado fue *Staphylococcus* aureus a una concentración del 50 % con un valor medio de 17,67 mm.<sup>33</sup>

Estas investigaciones respaldan los resultados obtenidos, a pesar de los diversos estándares de los activos vegetales utilizadas en estas investigaciones, el cual prometen ser potenciales tratamientos naturales y coadyuvantes frente a infecciones producidas por *Streptococcus mutans* y *Staphylococcus aureus* el cual aqueja a la población que padece de estas patologías afectando su calidad de vida el cual trae consecuencias en el sector de la salud pública.

#### IV.2. Conclusiones

- El extracto etanólico del fruto de Physalis peruviana L.
   (Aguaymanto) presentó efecto antibacteriano frente a Streptococcus mutans ATCC 25175 y Staphylococcus aureus ATCC 25923.
- Los tipos de metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico del fruto de *Physalis peruviana L.* (Aguaymanto) responsables de la actividad antibacteriana in vitro fueron alcaloides, lactonas α, β-insaturadas, compuestos fenólicos, terpenos, esteroides, taninos y flavonoides.
- La concentración que presenta el extracto etanólico del fruto de Physalis peruviana L. (Aguaymanto) que presentó actividad antibacteriana frente a Streptococcus mutans ATCC 25175 fue del 15%, 50% y 85% y frente Staphylococcus aureus ATCC 25923 solo posee efecto antibacteriano la concentración del 85%.
- El extracto etanólico del fruto de Physalis peruviana L.
   (Aguaymanto) en las concentraciones del 15%, 50% y 85% no superaron el efecto inhibidor de la Clorhexidina frente a Streptococcus mutans ATCC 25175, por otro lado, las concentraciones del 15%, 50% y 85% no superaron el efecto inhibidor del Ciprofloxacino frente a Staphylococcus aureus ATCC 25923

#### IV.3. Recomendaciones

- Se recomienda continuar con investigaciones sobre la actividad antibacteriana de Aguaymanto frente a otras cepas bacterianas para definir su espectro de actividad biológica.
- Evaluar otras estrategias de extracción, así como diferentes métodos que se sumen a la determinación para decidir la acción antibacteriana del Aguaymanto.
- Realizar estudios farmacológicos para el uso integral del Aguaymanto y su aprovechamiento en beneficio de la población.

# REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Pachay J. Las infecciones bacterianas y su resistencia a antibióticos. Caso de estudio: Hospital Oncológico "Dr. Julio Villacreses Colmont Solca", Portoviejo. Univ y Soc [Internet]. 2018;10(5):219–23. Available from: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\_arttext&pid=S2218-36202018000500219
- Cheung G, Bae J, Otto M. Pathogenicity and virulence of Staphylococcus aureus. Virulence [Internet]. 2021;12(1):547–69. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7872022/
- Kourtis A, Hatfield K, Baggs J, Mu Y, See I, Epson E, et al. Vital Signs: Epidemiology and Recent Trends in Methicillin-Resistant and in Methicillin-Susceptible Staphylococcus aureus Bloodstream Infections — United States. MMWR Morb Mortal Wkly Rep [Internet]. 2019;68(9):214–9. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30845118/
- Zhen X, Lundborg C, Zhang M, Sun X, Li Y, Hu X, et al. Clinical and economic impact of methicillin-resistant Staphylococcus aureus: a multicentre study in China. Sci Rep [Internet]. 2020;10(1):1–8. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32127606/
- Ferrer G, Borrull A, Pérez C, Montero C, Collazo I, Moya S, et al. Rate of methicillin-resistant Staphylococcus aureus in pediatric emergency departments in Spain. An Pediatr [Internet]. 2022;97(2):95–102. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35788335/
- 6. Papadopoulos P, Papadopoulos T, Angelidis A, Boukouvala E, Zdragas A, Papa A, et al. Prevalence of Staphylococcus aureus and of methicillin-resistant S. aureus (MRSA) along the production chain of dairy products in north-western Greece. Food Microbiol [Internet]. 2018;69:43–50. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28941908/#:~:text=The objective of this study,aureus.
- 7. Zubaidah N, Dianawati N, Ridwan R, Shirakawa T. The Clinical Pattern and Prevalence of Streptococcus mutans and Streptococcus sobrinus among Adult and Children Patients with Dental Caries. Pesqui Bras Odontopediatria Clin Integr [Internet]. 2022;22:1–11. Available from: https://www.scielo.br/j/pboci/a/7yGVtFFKgbm4YfBjN7LfHLF/

- 8. Veena R, Nagarathna C. Correlation of streptococcus mutans and streptococcus sobrinus colonization with and without caries experience in preschool children. Indian J Dent Res [Internet]. 2020;31(1):73–9. Available from: https://www.ijdr.in/article.asp?issn=0970-9290;year=2020;volume=31;issue=1;spage=73;epage=79;aulast=Veena
- Babaeekhou L, Ghane M, Ezatzade F, Eftekhari S. Streptococcus mutans and Streptococcus sobrinus distribution in the saliva and plaque of Iranian population: Higher prevalence of S. mutans serotypes f and k. Int J Dent Hyg [Internet]. 2021;19(2):193–200. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33369141/
- Alkhars N, Zeng Y, Alomeir N, et al. Oral Candida Predicts Streptococcus mutans Emergence in Underserved US Infants. J Dent Res [Internet]. 2022;101(1):54–62. Available from: https://journals.sagepub.com/doi/full/10.1177/00220345211012385
- 11. Cabrejos L, Vives C, Inga J, Astocondor L, Hinostroza N, Garcia C. Frecuencia de Staphylococcus aureus meticilinorresistente adquirido en la comunidad en un hospital de tercer nivel en Perú. Rev Peru Med Exp Salud Publica [Internet]. 2021;38(2):313–7. Available from: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\_arttext&pid=S1726-46342021000200313#:~:text=Posteriormente%2C un estudio que incluyó,características moleculares de MRSA-AH.
- Michilot K. Frecuencia de Staphylococcus aureus resistentes a meticilina aislados en fosas nasales en el personal del hospital regional José Cayetano Heredia de la ciudad de Piura, Perú [Internet]. Universidad Nacional de Piura; 2020. Available from: https://repositorio.unp.edu.pe/handle/20.500.12676/2926
- 13. Ministerio de salud del Perú. El 90.4% de los peruanos tiene caries dental [Internet]. 2019. Available from: https://www.gob.pe/institucion/minsa/noticias/45475-el-90-4-de-los-peruanos-tiene-caries-dental
- Yunlei G et al. Prevalence and Therapies of Antibiotic-Resistance in Staphylococcus aureus. Front Cell Infect Microbiol [Internet]. 2020;10(107):1– 11. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32257966/
- 15. Huang S, Wu M, Li J, et al. The dlt operon contributes to the resistance to

- chlorhexidine in Streptococcus mutans. Int J Antimicrob Agents [Internet]. 2022;59(3). Available from: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0924857922000218
- Petrovic A, Lin R, Ho J, Maddocks S, Ben N, Iredell J, et al. Safety of bacteriophage therapy in severe Staphylococcus aureus infection. Nat Microbiol [Internet]. 2020;5(3):465–72. Available from: https://www.nature.com/articles/s41564-019-0634-z
- Miklasińska M, Kępa M, Wojtyczka R, Idzik D, Wąsik T. Phenolic compounds diminish antibiotic resistance of staphylococcus aureus clinical strains. Int J Environ Res Public Health [Internet]. 2018;15(10):1–18. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30360435/
- 18. Organización Mundial de la Salud (OMS). Resistencia a los antimicrobianos [Internet]. 2020. Available from: https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance
- Luza C. Plan de marketing para el lanzamiento del superfood peruano a base de aguaymanto, caso: ciudad Arequipa [Internet]. Universidad Nacional de San Agustin de Arequipa; 2021. Available from: http://repositorio.unsa.edu.pe/handle/20.500.12773/13834
- 20. Minaya M. Comercialización de Aguaymanto del Ecotipo Colombiano (Physalis peruviana L.) para el Mercado de Estados Unidos en el Departamento de Junin [Internet]. Universidad Nacional de Huancavelica; 2020. Available from: https://repositorio.unh.edu.pe/items/5b3f57fc-60da-4bb8-baca-cb5c070bc7b6
- 21. Garcia M. Efecto del procesamiento de láminas deshidratadas de pulpa de aguaymanto (Physalis peruviana) en la retención de vitamina C [Internet]. Universidad San Ignacio de Loyola; 2020. Available from: https://repositorio.usil.edu.pe/items/edd2efcb-5df0-4391-a0b2-2c8c9162326d
- 22. Arenas T, Diaz I. Capacidad antioxidante del aguaymanto (Physalis peruviana) en tres presentaciones para el consumo humano [Internet]. Universidad Femenina del Sagrado Corazon; 2020. Available from: https://repositorio.unife.edu.pe/repositorio/handle/20.500.11955/725#:~:text= Lo resultados muestran que la,12.69 y 17.73 mg%2FmL.
- 23. Corrales D. Beneficios del consumo del fruto de Physalis peruviana L.: una

- revision narrativa [Internet]. Universidad San Ignacio de Loyola; 2020. Available from: https://repositorio.usil.edu.pe/items/7a208fe0-c7c7-4a18-ae5f-7e9e233a54df
- 24. Taylor T, Unakal C. Staphylococcus Aureus [Internet]. StatPearls; 2022.
  Available from:
  https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK441868/#\_NBK441868\_pubdet\_
- Lee A, De Lencastre H, Garau J, Kluytmans J, Malhotra S, Peschel A, et al. Methicillin-resistant Staphylococcus aureus. Nat Rev Dis Prim [Internet].
   2018;4:1–23. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29849094/
- 26. Aguayo A, Quezada M, Mella S, Riedel G, Opazo A, Bello H, et al. Bases moleculares de la resistencia a meticilina en Staphylococcus aureus. Rev Chile Infectol [Internet]. 2018;35(1):7–14. Available from: https://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0716-10182018000100007&script=sci\_abstract
- 27. Jenul C, Horswill A. Regulation of staphylococcus aureus virulence. Microbiol Spectr [Internet]. 2019;7(2):1–21. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30953424/
- 28. Gajdács M. The continuing threat of methicillin-resistant Staphylococcus Aureus. Antibiotics [Internet]. 2019;8(2):1–27. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31052511/
- Cui T, Luo W, Xu L, et al. Progress of Antimicrobial Discovery Against the Major Cariogenic Pathogen Streptococcus mutans. Curr Issues Mol Biol. 2019;32:601–44.
- 30. Kovacs C, Faustoferri R, Bischer A, Quivey R. Streptococcus mutans requires mature rhamnose-glucose polysaccharides for proper pathophysiology, morphogenesis and cellular division. Mol Microbiol. 2019;112(3):944–59.
- Wasfi R, Abd El-Rahman O, Zafe M, Ashour H. Probiotic Lactobacillus sp. inhibit growth, biofilm formation and gene expression of caries-inducing Streptococcus mutans. J Cell Mol Med [Internet]. 2018;22(3):1972–83. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29316223/
- 32. Li Q, Liang H, Li B, Yuan J, Ao Z, Fan Y, et al. Peruranolides A–D, four new withanolides with potential antibacterial and cytotoxic activity from Physalis peruviana L. Front Biosci Landmark [Internet]. 2022;27(3):1–8. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35345330/

- 33. Mokhtar S, Mohamed A, Ali A. Antibacterial and antioxidant activities of Physalis peruviana and Hyphaene thebaica extracts. African J Biol Sci [Internet]. 2019;15(1):73–86. Available from: https://journals.ekb.eg/article\_63997.html
- 34. Salas S. Efecto antibacteriano del aceite esencial de Physalis peruviana vs clorhexidina sobre cepas de Streptococcus mutans [Internet]. Universidad Central del Ecuador; 2017. Available from: http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/13420
- 35. Chacaltana L, Huayanca I. Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanolico del fruto de Physalis peruviana L. (Aguaymanto)". Bol Inf [Internet]. 2017;20:4–5. Available from: https://www.unica.edu.pe/transparencia/InfAdic/pdfs/boletin/2017/boletin20-2017.pdf
- 36. Vargas R. Evaluacion fitoquimica y elaboracion de un gel a base del extracto etanolico de frutos de Physalis peruviana [Internet]. Universidad Maria Auxiliadora; 2019. Available from: https://repositorio.uma.edu.pe/handle/20.500.12970/239
- 37. Uriol D, Espinoza M. Actividad antimicrobiana in vitro de los extractos hidroalcohólicos de frutos de aguaymanto (physalis peruviana I.) y de hojas de eucalipto (eucalyptus globulus labill) frente a Staphylococcus aureus. ArnaldoA [Internet]. 2019;28(1):115–24. Available from: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S2413-32992021000100115&script=sci\_arttext
- 38. Obregón A, Elías C, Contreras E, Arias G, Bracamonte M. Características fisicoquímicas, nutricionales y morfológicas de frutas nativas. Rev Investig Altoandinas J High Andean Res [Internet]. 2021;23(1):17–25. Available from: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S2313-29572021000100017&script=sci\_arttext
- Arispe C, Yangali J, Guerrero M, Lozada O, Acuña L, Arellano C. La Investigacion Cientifica. 1 ed. Universidad Internacional del Ecuador; 2020. 128 p.
- 40. Hernandez R, Mendoza C. Metodología de la investigación: las rutas cuantitativa, cualitativa y mixta. 1st ed. Mexico: Mc Graw Hill; 2018. 751 p.
- 41. Pawer D, Park S, Roca M, Salazar A. Diferencias en la presencia de

- alcaloides y fenoles de cinco muestras de muña de expendio informal procedentes de mercados populares en Lima Perú. Horiz méd. 2018;18(3):25–9.
- 42. Montenegro A, Ramos D. Actividad antibacteriana de Caesalpinia spinosa (tara) sobre Porphyromonas gingivalis. Odontol Sanmarquina. 2016;19(1):7–11.
- 43. Gallardo E. Metodologia de la Investigacion. 1 ed. Huancayo: Universidad Continental; 2017. 96 p.
- 44. Valenzuela C, Gongora N, Dueñas M, Velazquez L, Ramos A, Valenzuela N. Efecto de los extractos secos clorofórmico y de diclorometano de Tropaeolum tuberosum (Ruiz & Pavón) mashua sobre los parámetros seminales y toxicidad aguda. Rev Colomb Cienc Quím Farm [Internet]. 2019;48(1):94–111. Available from: http://dx.doi.org/10.15446/rcciquifa.v48n1.80068
- 45. Robles P, Espinoza G. Efecto antibacteriano IN VITRO del extracto etanólico de la cáscara de solanum sessiliflorum dunal (cocona) frente a las cepas de salmonella enteritidis y staphylococcus aureus [Internet]. Universidad Maria Auxiliadora; 2021. Available from: https://repositorio.uma.edu.pe/handle/20.500.12970/644
- 46. Huaman C, Palacios L, Perez F. Elaboracion de una pasta dental a base del extracto etanolico del fruto de Physalis peruviana [Internet]. Universidad Maria Auxiliadora; 2019. Available from: https://repositorio.uma.edu.pe/handle/20.500.12970/256
- 47. Muñoz J, Idrogo G. Efecto antibacteriano in vitro del extracto hidroalcoholico de las hojas de Ranunculus praemorsus Kunth ex DC ( centella ) frente a cepas de Staphylococcus aureus ATCC: 25923 [Internet]. Universidad Maria Auxiliadora; 2022. Available from: https://repositorio.uma.edu.pe/handle/20.500.12970/895#:~:text=Conclusión %3A El extracto hidroalcohólico de,de Staphylococcus aureus ATCC%3A 25923.
- 48. Alvia C, Olortegui A. Efecto antibacteriano in vitro del extracto hidroalcohólico del fruto de Solanum sessiliflorum (cocona) frente a cepas de Staphylococcus aureus y Streptococcus pyogenes [Internet]. Universidad Maria Auxiliadora; 2022. Available from:

https://repositorio.uma.edu.pe/handle/20.500.12970/786

- 49. Organizacion Panamericana de la Salud. Situación de las plantas medicinales en Perú. Lima; 2019.
- Recharte C. Actividad antibacteriana in vitro del extracto hidrooalcohólico del fruto del Physalis peruviana L. (Aguaymanto). Universidad Alas Peruanas;
   2018.
- 51. Huertas M. Evaluación in vitro del efecto antibacteriano y citotóxico del extracto metanólico de physalis peruviana (capulí) sobre cepas de Streptococcus mutans (ATCC 25175) y Streptococcus sanguinis (ATCC 10556). Universidad Peruana de Ciencias Aplicadas; 2016.

## **ANEXOS**

# ANEXO A. Instrumentos de recolección de datos

# Tabla A: Ensayo microbiológico

Microorganismo	Diámetros de inhibición en mm				
	85 %	50 %	15 %	Ciprofloxacino de 5 ug	DMSO
Staphylococcus aureus ATCC 25923					
Promedio					
Microorganismo		Diá	ámetros d	de inhibición en mm	1
	85 %	50 %	15 %	Clorhexidina	DMSO
Streptococcus mutans ATCC 25175					
Promedio					

Tabla B: Marcha fitoquímica del extracto etanólico

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

# Leyenda:

- (-) Ausente (+) Escaso

- (++) Leve (+++) Moderado (++++) Abundante

**ANEXO B. Matriz de consistencia** 

Formulación del problema	Objetivos	Hipótesis	
Problema General	Objetivo General	Hipótesis General	
¿Cuál es la actividad antibacteriana in vitro del	Determinar la actividad antibacteriana in vitro	El extracto etanólico del fruto de Physalis	
extracto etanólico de los frutos de Physalis	del extracto etanólico del fruto de Physalis	peruviana L. (Aguaymanto) presenta	
peruviana L. (Aguaymanto) frente a	peruviana L. (Aguaymanto) frente a	actividad antibacteriana frente a	
Streptococcus mutans ATCC 25175 y	Streptococcus mutans ATCC 25175 y	Streptococcus mutans ATCC 25175 y	
Staphylococcus aureus ATCC 25923?	Staphylococcus aureus ATCC 25923.	Staphylococcus aureus ATCC 25923.	
Problemas Específicos	Objetivos Específicos	Hipótesis Específicas	
¿Qué tipo de metabolitos secundarios	Identificar los tipos de metabolitos	El extracto etanólico del fruto de Physalis	
responsables de la actividad antibacteriana in	secundarios presentes en el extracto etanólico	peruviana L. (Aguaymanto) posee	
vitro poseerá el extracto etanólico de los frutos	del fruto de <i>Physalis peruviana L.</i>	metabolitos secundarios responsables de	
de Physalis peruviana L. (Aguaymanto)?	(Aguaymanto) responsables de la actividad	actividad antibacteriana in vitro.	
	antibacteriana in vitro.		
¿A qué concentración el extracto etanólico de	Determinar a qué concentración el extracto	El extracto etanólico del fruto de Physalis	
los frutos de <i>Physalis peruviana L.</i>	etanólico del fruto de Physalis peruviana L.	peruviana L. (Aguaymanto) posee actividad	
(Aguaymanto) presentará actividad	(Aguaymanto) presenta actividad	antibacteriana in vitro a mayor	
antibacteriana in vitro frente a Streptococcus	antibacteriana frente a Streptococcus mutans	concentración frente a Streptococcus	
mutans ATCC 25175 y Staphylococcus	ATCC 25175 y Staphylococcus aureus ATCC	mutans ATCC 25175 y Staphylococcus	
aureus ATCC 25923?	25923.	aureus ATCC	
¿Cuál es la actividad antibacteriana in vitro del	Comparar la actividad antibacteriana in vitro	La actividad antibacteriana del extracto	
extracto etanólico de los frutos de Physalis	del extracto etanólico del fruto de Physalis	etanólico del fruto de Physalis peruviana L.	
peruviana L. (Aguaymanto) en comparación	peruviana L. (Aguaymanto) con el fármaco de	(Aguaymanto) es significativamente mayor	
con el fármaco de referencia frente a	referencia frente a Streptococcus mutans	comparado con el fármaco de referencia	
Streptococcus mutans ATCC 25175 y	ATCC 25175 y Staphylococcus aureus ATCC	frente a Streptococcus mutans ATCC 25175	
Staphylococcus aureus ATCC 25923?	25923	y Staphylococcus aureus ATCC 25923.	

# Anexo C. Operacionalización de las variables

VARIABLES	DIMENSIONES	INDICADORES	ESCALA DE MEDICIÓN	N° DE ÍTEMS	VALOR
VARIABLE INDEPENDIENTE Extracto etanólico del fruto de <i>Physalis peruviana L.</i> (Aguaymanto)	Fitoquímica	Marcha fitoquímica	Ordinal	14	(-) Ausente (+) Leve (++) Moderado (+++) Abundante
VARIABLE DEPENDIENTE Efecto antibacteriano in vitro frente Staphylococcus aureus ATCC 25923 y Streptococcus mutans ATCC 25175	`	Medición de diámetro inhibición (mm)	Razón	10	<8 mm: nulo (-) 8 – 14 mm: Sensible (+) 14 – 20 mm: Muy sensible (++) >20 mm: Sumamente sensible (+++)

#### Anexo D. Certificado Taxonómico





### CERTIFICACION DE IDENTIFICACION BOTANICA

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

#### CERTIFICA:

Que, ROJAS TACURI, KINVER ISAMAR y PAQUIYAURI CHIPANA, FIORELLA SOFIA. Tesistas de la Universidad María Auxiliadora. Facultad de Ciencias de la Salud. Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, con fines de investigación para desarrollar la tesis titulada: ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA IN VITRO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE FRUTOS DE Physalis peruviana (Aguaymanto) FRENTE A Streptococcus mutans ATCC 25175 Y Staphylococcus aureus ATCC 25923, han solicitado la identificación y certificación botánica de una planta procedente del Centro poblado Condoray, distrito de Tambillo, provincia de Huamanga y departamento de Ayacucho, donde es conocidacon el nombre vulgar de "Aguaymanto", la muestra ha sido identificada como Physalis peruviana L. Según la base de datos de Tropicos del Missouri Botanical Gardenque sigue el sistema modemo de clasificación de las angiospermas (APG), la especie identificada se ubica en las siguientes categorías taxonómicas y clados:

Reino: Plantae
División: Angiospermae
Clase: Equisetopsida
Subclase: Magnoliidae
Superorden: Asteranae
Orden: Solanales
Familia: Solanaceae
Género: Physalis
Especie: Physalis peruviana L

Nombre vulgar: "Aguaymanto"

Se expide la presente certificación con fines de investigación científica.

Lima, 11 de diciembre del 2022



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

#### ANEXO E. Informe de análisis de laboratorio



"Año del Fortalecimiento de la Soberanía Nacional".

#### Informe de Resultados

Solicitado por: ROJAS TACURI, KINVER ISAMAR

PAQUIYAURI CHIPANA, FIORELLA SOFIA

Muestra: Extracto de Physalis peruviana

Cantidad: 55.6 g

Fecha de ensayo: 17-12-2022

	Diámetros de inhibición en mm						
Microorganismo	85%	50%	15%	Clorhexidina	DMSO		
	18.54	14.65	9.12	20.48	6		
Streptococcus	18.55	14.60	9.10	20.45	6		
mutans	18.26	14.62	9.11	19.80	6		
ATCC 25175	18.58	14.63	9.11	20.46	6		
	18.50	14.65	9.10	19.99	6		
	85%	50%	15%	Ciprofloxacino	DMSO		
	12.13	6	6	35.07	6		
Staphylococcus	12.11	6	6	34.80	6		
aureus	12.13	6	6	35.10	6		
ATCC 25923	12.14	6	6	35.15	6		
Γ	12.12	6	6	34.98	6		

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

Lic. T.M. Walter A. Śiri Rodriguez

CTMP. 10808

Jr. Comercio Nº 597 Pachacámac Telf. 2311053 Cel. 941708196- 993446913

<sup>\*</sup>Concentración del inoculo: 1.5 x 108 UFC/mL

#### **ANEXO F. Certificado de Agar Mueller Hinton**



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

#### HiMedia Laboratories Private Limited

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

Email: info@himedialabs.com

#### Certificate of Analysis, Quality and Conformity

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

#### Appearance

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

#### Gelling

Firm, comparable with 1.7% agar gel.

#### Colour and Clarity of prepared medium

Light amber coloured clear to slight opalscent gel froms in Petri plates.

#### Reaction

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

#### pΗ

pH Range :7.20-7.40 Observed : 7.39

#### **Cultural Response**

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

#### **Antibiotic Sensitivity test**

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

#### Thymine/Thymidine Content

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

#### **Divalent Cation Content**

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

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

PAGE: 1/4



#### HiMedia Laboratories Private Limited

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

Email: info@himedialabs.com

#### Certificate of Analysis, Quality and Conformity

Material Code: M173		Material Name : Mueller Hinton Agar		Lot N	lo : 000035752	1
Report No.: 040000849057	,	Date of Release &	Report : 201	8-09-24 Expir	y Date : 2023-09	
Chloramphenicol C 30 mcg					21-27 mm	26mm
Ciprofloxacin CIP 5mcg					30-40 mm	38mm
Gentamicin GEN 10 mcg					19-26 mm	24mm
Sulphafurazole SF 300 mcg			-	-	15-23 mm	21mm
Tetracycline TE 30 mcg *			-		18-25 mm	24mm
Co-Trimoxazole COT 25 mcg #			-	-	23-29 mm	28mm
Staphylococcus aureus	ATCC	25923				
Growth promoting	76	luxuriant	64	84%	-	
Amoxyclav AMC 30 mcg					28-36 mm	35mm
Ampicillin/Sulbactam A/S 10/10 mcg				•	29-37 mm	36mm
Cephalothin CEP 30mcg			-		29-37 mm	35mm
Ciprofloxacin CIP 5mcg			-	2	22-30 mm	29mm
Erythromycin E 15 mcg			-	-	22-30 mm	28mm
Linezolid LZ 30 mcg			-	-	25-32 mm	31mm
Oxacillin OX Imcg			-	-	18-24 mm	23mm
Pristinomycin RP 15 mcg			-	-	21-28 mm	27mm
Tetracycline TE 30 mcg *			-	-	24-30 mm	29mm
Vancomycin VA 30 mcg			-	-	17-21 mm	20mm
Co-Trimoxazole COT 25 mcg		-		•	24-32 mm	31mm
Cefoxitin CX 30 mcg			-	-	23-29 mm	27mm
Seudomonas aeruginos	sa ATC	CC 27853				
Growth promoting	83	luxuriant	71	85%		
Amikacin AK 30 mcg *			-		18-26 mm	25mm
Iztreonam AT 3mcg					23-29 mm	27mm
Cephotaxime CTX 30 mcg					18-22 mm	21mm
Ceftazidime CAZ 30 mcg					22-29 mm	27mm
Ciprofloxacin CIP 5mcg					25-33 mm	31mm
Gentamicin GEN 10 mcg *		-			16-21 mm	20mm
mipenem IPM 10 mcg					20-28 mm	27mm
Piperacillin PI 100 mcg					25-33 mm	31mm
CC 75/10mcg					20-28 mm	27mm
Tobramycin TOB 10 mcg *					19-25 mm	23mm

PAGE: 2/4



#### **HiMedia Laboratories Private Limited**

23, Vadhani Industrial Estate, L.B.S. Marg,

Mumbai - 400086, Website: www.himedialabs.com,

Email: info@himedialabs.com

#### Certificate of Analysis, Quality and Conformity

Material Code: M173		erial Name : ler Hinton Agar			Lot No	: 0000357521	
Report No.: 04000084905	7 Date	of Release &	Report : 2018-	09-24	Expiry D	ate: 2023-09	
Growth promoting	75	luxuriant	63		84%		
Amoxyclav AMC 30 mcg			-			17-22 mm	21mm
Ampicillin AMP 10 mcg		-	-			6 mm	6mm
Ampicillin/Sulbactam A/S 10/10 mcg		-	-	-		13-19 mm	18mm
Piperacillin PI 100 mcg		-	-			12-18 mm	16mm
Piperacillin/Tazobactam PIT 100/10 mcg		-	-	-		24-30 mm	29mm
Ticarcillin TI 75 mcg						6 mm	6mm
Ticarcillin/Clavulanic acid TCC 75/10mcg	•	-	-	-		21-25 mm	23mm
Enterococcus faecalis A	TCC 29212	2					•
Growth promoting	69	luxuriant	58	1	34%		-
Co-Trimoxazole COT 25 mcg	•		-	-		# 20 mm (Clear zone)	23mm
Trimethoprim TR 5 mcg #			-			# 20 mm	21mm
Vancomycin VA 30 mcg			-			# 17 mm	22mm
Staphylococcus aureus	ATCC 4330	00 (MRSA)					
Growth promoting	88	luxuriant	76	86%			-
Oxacillin OX 1 mcg			-	-		Very Hazy to No Zone	No zone
Sterptococcus pneumo	niae ATCC	49619 (On Me	dium with 5%	Shee	p Blood	)	
Growth promoting	80	luxuriant	69		86%		
Neisseria gonorrhoeae	ATCC 4922	6 (Incubated v	v/5% CO2)				
Growth promoting	71	luxuriant	63	1	38%	-	
Haemophilus influenzae	ATCC 492	47 (On mediu	m w/ Y.E.,NA	D & H	ematin)		
Growth promoting	84	luxuriant	72	1	35%		

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

#### Control Media:

- . For Bacteria : Soyabean Casein Digest Agar / Columbia Blood Agar base enriched with 5% v/v Sheep/Horse blood.
- . For Yeast & Mold : Sabouraud Dextrose Agar.
- . All ISO 11133 : 2014( E ) control strains are included in the Quality parameter
- . HiMedia Laboratories Pvt Ltd is Certified for ISO 9001:2015, ISO 13485:2012 , WHO GMP



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

#### HiMedia Laboratories Private Limited

23, Vadhani Industrial Estate, L.B.S. Marg,

Mumbai - 400086, Website: www.himedialabs.com,

Email: info@himedialabs.com

#### Certificate of Analysis, Quality and Conformity

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

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

#### STATUS OF THE MATERIAL: APPROVED

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

This document has been produced electronically and is valid

Microbiologist/Sr.Executive

Microbiologist

Ujivata M. Kokate

Asst./Dy/QC Manager

Skankaul Dx Sartosh X

24.09.2018

#### ANEXO G. Certificado de análisis de Cepa Streptococcus mutans



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

Specifications
Microorganism Name: Streptococcus mutans

Catalog Number: 0266 Lot Number: 266-34\*\*

Reference Number: ATCC® 25175™\*

Passage from Reference: 2

Expiration Date: 2023/8/31 Release Information:

Quality Control Technologist: Madison C Vogt

Release Date: 2021/9/16

#### Performance

Macroscopic Features:

Medium:

Two colony types; small, circular, dome shaped, entire edge, white and the SBAP other is small, circular and translucent.

Microscopic Features:

Small gram positive cocci to ovoid cells occurring singly, in pairs and Gram Stain (1) predominately in chains

ID System: MALDI-TOF (1)

See attached ID System results document.

Other Features/ Challenges: Results

(1) Catalase (3% Hydrogen Peroxide): negative

Amanda Kuperus Quality Control Manager AUTHORIZED SIGNATURE

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

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

Individual products are traceable to a recognized culture collection.





- The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC. Microbiologics, Inc. is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures.
- (1) These tests are accredited to ISO/IEC 17025.



#### **Bruker Daltonik MALDI Biotyper Classification Results**



#### Meaning of Score Values

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

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

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

Run Creation Date/Time: 2021-09-15T11:17:25.874 MCV

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

Sample Name	Sample ID	Organism (best match)	Score Value
D10 (+++) (A)	266-34	Streptococcus mutans	2.05

#### Comments:

N/A	
	i i

#### ANEXO H. Certificado de análisis de Cepa Staphylococcus aureus

# Microbiologics

Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

**Specifications** 

Microorganism Name: Staphylococcus aureus subsp. aureus

Catalog Number: 0360 Lot Number: 360-540\*\*

Reference Number: ATCO® 25923™\*

Passage from Reference: 3

(7) Mean Assay Value (MAV): 6.9E+02 CFU per pellet

Expiration Date: 2023/5/31

Release Information:

Quality Control Technologist: Kavitha Gobalan

Release Date: 2021/6/14

#### Performance

Macroscopic Features:

Medium: Medium to large, convex, entire edge, both white and pale white colonies, smooth, opaque, beta hemolytic SBAP

Microscopic Features:

Method:

Gram positive cocci occurring singly, in pairs and in irregular clusters

Gram Stain (1)

ID System: MALDI-TOF (1)

See attached ID System results document.

Amanda Kuperus

Director of Quality Control AUTHORIZED SIGNATURE

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

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

Individual products are traceable to a recognized culture collection.





- The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC. Microbiologics, Inc. is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures.
- (1) These tests are accredited to ISO/IEC 17025.



TESTING CERT #2655.01

The Mean Assay Value (MAV) stated above may deviate from the end-user's MAV based on variables inherent to each laboratory environment, such as methods, media type, equipment, pipettes, and individual technician technique.

## **Bruker Daltonik MALDI Biotyper Classification Results**



#### **Meaning of Score Values**

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

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

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

Run Creation Date/Time: 2021-06-10T14:33:39.137 KG

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

Sample Name	Sample ID	Organism (best match)	Score Value
A4 (+++) (A)	360-540	Staphylococcus aureus	2.45

#### Comments:

n/a

# ANEXO I. Evidencias fotográficas

## **RECOLECION DE LA MUESTRA**











## TRATAMIENTO DE LA MUESTRA



Figura 1. Physalis peruviana L. (Aguaymanto)



Figura 2. Selección y limpieza



Figura 3. Lavado de la muestra



Figura 4. Trozado de la muestra





Figura 5. Procedimiento de secado de la muestra



Figura 6. Proceso de molienda





Figura 7. Preparación del macerado del extracto etanólico





Figura 8. Proceso de filtración



Figura 9. Proceso de obtención de extracto seco



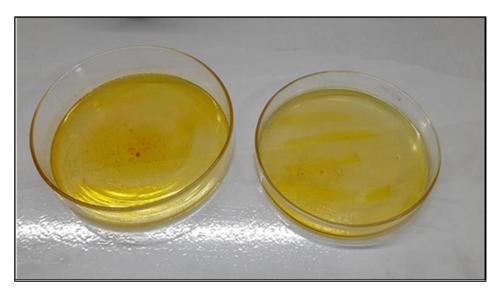


Figura 10. Obtención de extracto seco

# PRUEBA DE SOLUBILIDAD



Figura 11. Añadiendo extracto seco al tubo de ensayo



Figura 12. Agitación con el vortex

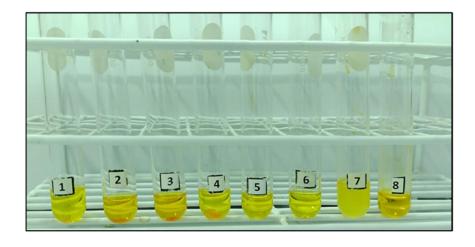


Figura 13. Resultado de prueba de solubilidad



Figura 14. Adición de extracto a los tubos de ensayo



Figura 15. Adición del reactivo en la marcha fitoquímica

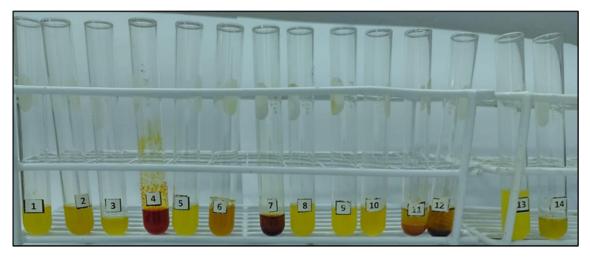


Figura 16. Resultado de la marcha fitoquímica

# **ENSAYO MICROBIOLÓGICO**



Figura 17. Pesado del Agar



Figura 18. Autoclave para el uso en la prueba microbiológica



Figura 19. Agar Mueller Hinton



Figura 20. Placas preparadas

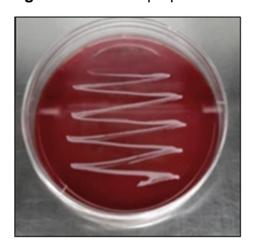


Figura 21. Cepa biológica de tipo: Streptococcus mutans

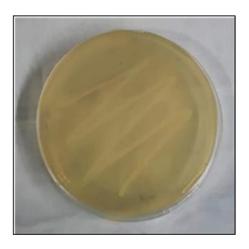


Figura 22. Cepa biológica de tipo: Staphylococcus aureus





Figura 23. Comparación de turbidez mediante el reactivo de Mac. Farland



Figura 24. Rotulado de placas

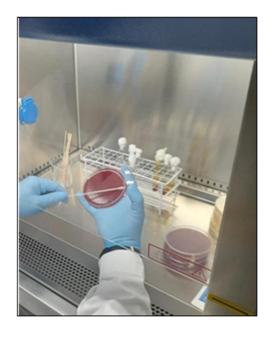


Figura 25. Sembrado de la cepa biológica en las placas



Figura 26. Realizando pozos en agar con ayuda de un sacabocado



Figura 27. Sustancias experimentales y controles



Figura 28. Adición de la sustancia experimental en la placa Petri



Figura 29. Incubación

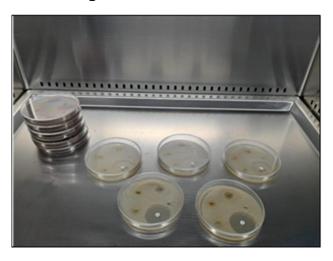
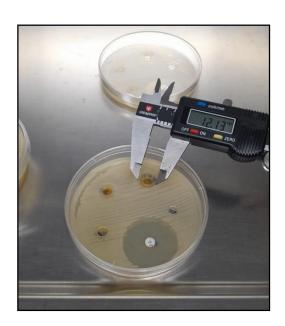


Figura 30. Placas Petri con halos de inhibición



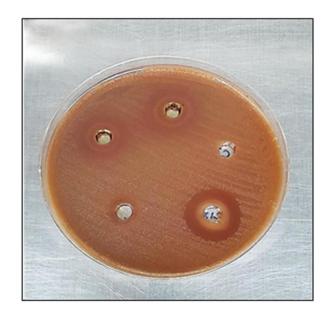


Figura 31. Lectura de resultados

ANEXO J. AUTORIZACIÓN PARA LA RECOLECCIÓN DE LA MUESTRA

CARTA DE AUTORIZACIÓN PARA LA RECOLECCIÓN DE LA MUESTRA

WALI

Yo, Ing. TENORIO DE LA CRUZ, MAYCO con DNI 43687217, en calidad de

administrador de la marca Wali Qimpi, con R.U.C. 10436872173, ubicado en el

Centro poblado Condoray, distrito de Tambillo, provincia de Huamanga y

departamento de Ayacucho.

Autorizo a las estudiantes de la Universidad María Auxiliadora, de la facultad de

FARMACIA Y BIOQUÍMICA, Bach. ROJAS TACURI, KINVER ISAMAR y Bach.

PAQUIYAURI CHIPANA, FIORELLA SOFIA, con título de proyecto de

investigación, "ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA in vitro DEL EXTRACTO

ETANÓLICO DE FRUTOS DE Physalis peruviana (Aguaymanto) FRENTE A

Streptococcus mutans ATCC 25175 Y Staphylococcus aureus ATCC 25923",

para que puedan recolectar la muestra correspondiente

Ayacucho, 18 de noviembre del 2022

MAYCO TENORIO DE LA CRUZ DNI: 43687217

RUC Nº: 10436872173