



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

“EFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL EXTRACTO  
ETANÓLICO DE SEMILLAS DE *Annona cherimola*  
(Chirimoya) frente *Escherichia coli* ATCC 25922”

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE QUÍMICO  
FARMACÉUTICO

**AUTORES:**

Bach. PAUCARCAJA REYMUNDO KELLY GISEÑA  
<https://orcid.org/0009-0002-2666-8896>

Bach. SULCA NEIRA MARISELA LISSETH  
<https://orcid.org/0009-0002-6199-0119>

**ASESOR**

Mg. TOVAR TICSE ROSMERY DIONICIA  
<https://orcid.org/0000-0001-9520-5372>

**LIMA – PERÚ**

**2023**

## DECLARACIÓN JURADA DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD

Yo, Paucarcaja Reymundo Kelly Giseña, con DNI 70979374, en mi condición de autor(a) de la tesis/ trabajo de investigación/ trabajo académico) presentada para optar el presentada para optar el TITULO PROFESIONAL de Químico Farmacéutico de título "EFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE SEMILLAS DE *Annona cherimola* (Chirimoya) frente *Escherichia coli* ATCC 25922", **AUTORIZO** a la Universidad María Auxiliadora (UMA) para publicar de manera indefinida en el repositorio institucional, el archivo digital que estoy entregando, en cumplimiento a la Ley N°30035 que regula el Repositorio Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación de acceso abierto y su respectivo Reglamento.

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

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

Lima, 26, de enero 2024.



Autor: Kelly Giseña Paucarcaja Reymundo



Asesor: Tovar Ticse, Rosmery Dionicia

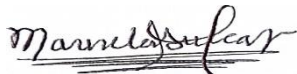
## DECLARACIÓN JURADA DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD

Yo, **Sulca Neira Marisela Lisseth**, con DNI **43501221**, en mi condición de autor(a) de la tesis/trabajo de investigación/ trabajo académico) presentada para optar el presentada para optar el TITULO PROFESIONAL de **Químico Farmacéutico** de título **“EFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE SEMILLAS DE *Annona cherimola* (Chirimoya) frente *Escherichia coli* ATCC 25922”**, **AUTORIZO** a la Universidad María Auxiliadora (UMA) para publicar de manera indefinida en el repositorio institucional, el archivo digital que estoy entregando, en cumplimiento a la Ley N°30035 que regula el Repositorio Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación de acceso abierto y su respectivo Reglamento.

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

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

Lima, 26, de enero 2024.



---

Autor: Marisela Lisseth Sulca Neira



---

Asesor: Tovar Ticse, Rosmery Dionicia

# EFFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE SEMILLAS DE Annona cherimola (Chirimoya) frente Escherichia coli ATCC 25922

## INFORME DE ORIGINALIDAD



## FUENTES PRIMARIAS

<b>1</b>	<b>repositorio.uma.edu.pe</b> Fuente de Internet	<b>16%</b>
<b>2</b>	<b>repositorio.unan.edu.ni</b> Fuente de Internet	<b>1%</b>
<b>3</b>	<b>Submitted to Universidad Maria Auxiliadora SAC</b> Trabajo del estudiante	<b>1%</b>

Excluir citas      Activo  
Excluir bibliografía      Activo

Excluir coincidencias < 1%

## **DEDICATORIA**

A Dios que ilumina mi camino en cada paso de mi vida cotidiana. Reconozco y aprecio la protección que he recibido y las bendiciones de bienestar que me han otorgado mis padres. El apoyo inquebrantable que siempre encuentro en ellos es un tesoro invaluable que valoro enormemente. A mi hijo quien es mi mayor inspiración. Me siento realmente afortunada por tener su amor y respaldo constante en mi vida.

Bach. Paucarcaja Reymundo, Kelly Giseña

Mi convicción en Dios ilumina mi sendero en cada paso que tomo, expresando gratitud por su guía constante. También quiero agradecer por protegerme y brindar bienestar a mis queridos padres, quienes son mi apoyo incondicional en cualquier situación. A mi hija quien es mi mayor motivo para seguir superándome profesionalmente en esta vida.

Bach. Sulca Neira, Marisela Lisseth

## **AGRADECIMIENTO**

Queremos expresar nuestro sincero agradecimiento a la Universidad María Auxiliadora por proporcionarnos la educación académica necesaria para nuestro desarrollo profesional y la consecución de nuestras metas establecidas.

También deseamos agradecer a nuestros padres, familiares y compañeros por su constante apoyo a lo largo de todo el proceso de investigación.

Además, extendemos nuestro agradecimiento a nuestra tutora, la Magíster Tovar Ticse, Rosmery, Dionicia por su incansable dedicación y paciencia en cada etapa de este proyecto de investigación.

## ÍNDICE GENERAL

RESUMEN .....	x
ABSTRACT .....	xi
I. INTRODUCCIÓN .....	14
II. MATERIALES Y MÉTODOS .....	20
II.1. Enfoque y diseño de la investigación .....	20
II.2. Población, muestra y muestreo .....	20
II.3. Variables de investigación .....	21
II.4. Técnicas e instrumentos para la recolección de datos .....	21
II.5. Plan metodológico para la recolección de datos .....	21
II.6. Procesamiento del análisis estadístico .....	23
II.7. Aspectos éticos .....	23
III. RESULTADOS .....	24
IV. DISCUSIÓN .....	30
IV.1. Discusión de resultados .....	30
IV.2. Conclusiones .....	33
IV.3. Recomendaciones .....	34
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	35
ANEXO .....	40
ANEXO A. Instrumentos de recolección de datos .....	40
ANEXO B. Matriz de consistencia .....	42
ANEXO C. Operacionalización de las variables .....	43
ANEXO D. Certificado Taxonómico .....	44
ANEXO E. Informe de análisis de laboratorio .....	45
ANEXO F. Certificado de Agar Mueller Hinton .....	46
ANEXO G. Certificado de análisis de Cepa <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 .....	49
ANEXO H. Evidencias fotográficas .....	51
ANEXO I. Porcentaje de rendimiento .....	60
ANEXO J. Constancia de recolección de la muestra .....	61

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Prueba solubilidad de <i>Annona cherimola</i> .....	24
Tabla 2. Promedio de los valores obtenidos de las mediciones de los halos de inhibición del extracto etanólico de semillas de <i>Annona cherimola</i> (Chirimoya) sobre <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922.....	25
Tabla 3. Análisis descriptivos estadísticos de los resultados obtenidos en la prueba microbiológica de la variedad bacteriana <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922.....	25
Tabla 4. Tamizaje fitoquímico del extracto etanólico de semillas de <i>Annona cherimola</i> (Chirimoya) .....	26
Tabla 5. Pruebas de ANOVA de los halos obtenidos frente <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 .....	27
Tabla 6. Comparaciones múltiples de los halos de inhibición de <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 .....	28
Tabla 7. Prueba de subconjuntos de Tukey para <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922...	29



## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Muestra de tipo Semillas <i>Annona cherimola</i> (Chirimoya) .....	51
Figura 2. Lavado de la muestra .....	51
Figura 3. Lavado de semillas .....	51
Figura 4. Procedimiento de secado de la muestra .....	52
Figura 5. Procedimiento de molienda de la muestra .....	52
Figura 6. Preparación del macerado del extracto etanólico.....	52
Figura 7. Procedimiento de filtración del macerado del extracto etanólico .....	53
Figura 8. Proceso de vertido en placas .....	53
Figura 9. Obtención de extracto seco.....	53
Figura 10. Añadiendo extracto seco al tubo de ensayo para prueba de solubilidad .....	54
Figura 11. Resultado de prueba de solubilidad.....	54
Figura 12. Adición de extracto a los tubos de ensayo .....	55
Figura 13. Resultado de la marcha fitoquímica.....	55
Figura 14. Pesando del Agar .....	56
Figura 15. Autoclave para el uso en la prueba microbiológica.....	56
Figura 16. Agar Mueller Hinton .....	56
Figura 17. Placas preparadas .....	57
Figura 18. Cepa biológica de tipo: <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 .....	57
Figura 19. Comparación de turbidez mediante el reactivo de Mc. Farland .....	57
Figura 20. Rotulado de placas .....	58
Figura 21. Sembrado de la cepa biológicas en las placas .....	58
Figura 22. Preparación de discos.....	58
Figura 23. Placas inoculadas con la cepa y con discos .....	59
Figura 24. Incubación de placas.....	59
Figura 25. Lectura de resultados.....	59

## RESUMEN

**Objetivo:** Determinar el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de semillas de *Annona cherimola* (Chirimoya) frente *Escherichia coli* ATCC 25922

**Materiales y métodos:** cuantitativo, experimental; población: 60 Kg de *Annona cherimola*; muestra de 3 kg de semilla de *Annona cherimola*; por otro lado, se empleó 10 placas Petri inoculadas con *Escherichia coli*. Además se realizó el tamizaje fitoquímico, difusión en agar en disco, por grupos al 10%, 40% y 80% frente a ciprofloxacino 5ug.

**Resultados:** Las medias en concentraciones del 10%, 40% y 80% del extracto etanólico de semillas de *Annona cherimola* (Chirimoya) frente *Escherichia coli* ATCC 25922 fueron más bajos que los registrados por Ciprofloxacino 5ug. La prueba de ANOVA manifestó ( $p < 0,05$ ) en comparación con el conjunto de control. Además se identificó la presencia de compuestos fenólicos, alcaloides, lactonas  $\alpha$ ,  $\beta$ -insaturadas, taninos y azúcares reductores.

**Conclusión:** El extracto etanólico de semillas de *Annona cherimola* (Chirimoya) no presentó efecto antibacteriano al 10%, 40% y 80% frente *Escherichia coli* ATCC 25922.

**Palabras clave:** Efecto antibacteriano, *Annona cherimola*, *Escherichia coli*

## ABSTRACT

**Objective:** Determine the in vitro antibacterial effect of the ethanolic extract of *Annona cherimola* (Chirimoya) seeds against *Escherichia coli* ATCC 25922

**Materials and methods:** quantitative, experimental; population: 60 kg of *Annona cherimola*; 3 kg sample of *Annona cherimola* seed; On the other hand, 10 Petri dishes inoculated with *Escherichia coli* were used. In addition, the phytochemical march was used, diffusion in agar in wells, consisting of groups at 10%, 40% and 80% against ciprofloxacin 5ug.

**Results:** The average diameters at concentrations of 10%, 40% and 80% of the ethanolic extract of *Annona cherimola* (Custard apple) seeds against *Escherichia coli* ATCC 25922 were lower than those recorded by Ciprofloxacin 5ug. The ANOVA test showed ( $p < 0.05$ ) compared to the control set. Additionally, the presence of phenolic compounds, alkaloids,  $\alpha$ ,  $\beta$ -unsaturated lactones, tannins and reducing sugars was identified.

**Conclusion:** The ethanolic extract of *Annona cherimola* (Chirimoya) seeds did not present antibacterial effect at 10%, 40% and 80% against *Escherichia coli* ATCC 25922.

**Keywords:** Antibacterial effect, *Annona cherimola*, *Escherichia coli*

## I. INTRODUCCIÓN

La resistencia bacteriana se ha transformado en un desafío de alcance mundial para la salud pública debido a la habilidad de las bacterias para adaptarse y volverse resistentes a varios tipos de antibióticos<sup>1</sup>. *Escherichia coli* es una bacteria que ha desarrollado resistencia a los antibióticos, lo que la convierte en una amenaza importante en el ámbito de las infecciones. Su asociación con enfermedades diarreicas ha resultado en un total de 51,186 defunciones en todas las edades<sup>2</sup>. Además, esta bacteria muestra una tasa de mortalidad inquietante del 4.2% en la población pediátrica. La Organización Mundial de la Salud destaca que aproximadamente el 16.5% de la población en el mundo sufre infecciones por *E. coli*, la falta de conocimiento sobre su prevención y tratamiento es evidente. Además subraya la importancia de mejorar la educación pública, la infraestructura de salud y la distribución de medicamentos para afrontar estos desafíos a nivel global<sup>3</sup>.

En naciones del Medio Oriente, como Arabia Saudita, se observa una prevalencia destacada de la variedad de *Escherichia coli* de amplio espectro, que exhibe resistencia a los antibióticos betalactámicos<sup>4</sup>. En Irán, se ha registrado que el 26% de los pacientes con síntomas de diarrea están afectados por esta cepa bacteriana<sup>5</sup>. En Nepal, se ha reportado una tasa de infección del 44.5%, con cepas aisladas que presentan resistencia a dos antibióticos distintos<sup>6</sup>. En Etiopía, la proporción de infección alcanza el 15.3%, vinculándose esta enfermedad a la ingestión de alimentos mal preparados<sup>7</sup>.

En Estados Unidos, se ha identificado la presencia de esta bacteria en un 99.3% de las muestras de agua destinada al consumo humano. Además, se ha detectado la presencia de este microorganismo en artículos de carne, mercancías lácteas, principalmente de origen en ferias campesinas, lo que aumenta su potencial diseminación en la totalidad de la población<sup>8</sup>. En México, se registra que alrededor de 5 millones de habitantes experimentan infecciones del tracto urinario en algún punto de sus vidas, siendo *Escherichia coli* la bacteria predominante en estos casos<sup>9 10</sup>.

El Ministerio de Salud de Perú reportó un total de 1,204,136 casos de diarrea aguda en 2019<sup>11</sup>. Los infantes de edad superior a 5 años resultaron ser la categoría más impactada, experimentando el mayor número de decesos a causa de esta enfermedad, con una tasa que sobrepasó el 65% en dicho conjunto de personas. Adicionalmente, un estudio puso de manifiesto que la bacteria continúa presente en la región, siendo atribuido este hecho a la implementación insuficiente de medidas de salud por parte de las autoridades<sup>12</sup>. En Lima, la alta densidad poblacional intensifica el riesgo de propagación de las infecciones por *E. coli*, acentuado por un aumento del 20% en los casos recientes. Esta tendencia enfatiza la urgencia de enfrentar directamente las infecciones del tracto urinario, con un 19% de los casos médicos atribuidos a las Infecciones del tracto urinario <sup>13,14</sup>.

Las infecciones por *Escherichia coli* se originan por la contaminación del agua, higiene insuficiente, alimentos crudos o mal cocidos, contaminación cruzada, prácticas agrícolas inseguras, hacinamiento y sistemas de saneamiento limitados, además de la resistencia antibiótica, lo que exige medidas integrales de prevención y control<sup>15</sup>.

El aumento de las infecciones nosocomiales causadas por *Escherichia coli* y la aparición de resistencia antibiótica complica la capacidad de tratarlas con eficacia. Esta situación tiene consecuencias sustanciales en la esfera de la salud pública, contribuyendo a un incremento en la carga de enfermedades y generando costos adicionales en el sistema de salud de Perú debido a tratamientos prolongados y hospitalizaciones<sup>16</sup>.

En este contexto, la detección de agentes antibacterianos potenciales se ha vuelto crucial para los científicos especializados en alimentos. Se ha propuesto la utilización completa de las semillas de *Annona cherimola* (Chirimoya) como una alternativa fitoterapéutica este enfoque evitaría a contrarrestar la resistencia bacteriana y podría emplearse en el manejo y recuperación de pacientes que presenten cuadros de infecciones.

Pregunta general:

¿Cuál es el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de semillas de *Annona cherimola* (Chirimoya) frente *Escherichia coli* ATCC 25922?

### Problemas Específicos:

- ¿Qué tipo de metabolitos secundarios responsables del efecto antibacteriano in vitro poseerá el extracto etanólico de semillas de *Annona cherimola* (Chirimoya)?
- ¿El extracto etanólico de semillas de *Annona cherimola* (Chirimoya) tendrá efecto antibacteriano in vitro frente *Escherichia coli* ATCC 25922 en la concentración del 10%, 40% y 80%?
- ¿Cuál es el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de semillas de *Annona cherimola* (Chirimoya) comparado con ciprofloxacino 5ug frente *Escherichia coli* ATCC 25922?

*Escherichia coli*, un bacilo gramnegativo de la familia Enterobacteriaceae, reside comúnmente en el intestino humano y en la sangre de ciertos animales. Aunque es parte de la microbiota natural, puede causar enfermedades como la diarrea debido a endotoxinas y fimbrias<sup>17</sup>. Esta bacteria se adquiere principalmente a través de la ruta fecal-mano-oral, estableciendo conexiones con trastornos intestinales, urinarios y situaciones hospitalarias<sup>18</sup>.

*Annona cherimola*, conocida como chirimoya, es una planta originaria de América del Sur, perteneciente a la familia Annonaceae. Diversos estudios han explorado su potencial antibacteriano, con énfasis en sus semillas. Se ha observado que las semillas de chirimoya poseen compuestos bioactivos con propiedades antimicrobianas, lo que ha despertado interés en su aplicación en la prevención y tratamiento de infecciones bacterianas. Además de las semillas, otras partes de la chirimoya, como las hojas, corteza y raíces, también han sido investigadas por sus propiedades medicinales. La planta ha sido tradicionalmente utilizada en la medicina herbal por sus posibles beneficios para la salud, y su capacidad antibacteriana podría contribuir a su potencial terapéutico en el campo de la medicina natural<sup>19</sup>.

León A, *et al.* (2019) En México, evaluaron la actividad antibacteriana (*Enterobacter aerogenes*, *Salmonella Typhimurium*, *Bacillus subtilis* y *Enterococcus faecalis*), tóxica y antioxidante de 15 extractos fraccionados. Empleando. Utilizando el método de difusión. Obteniendo que *Annona muricata* L presentó actividad inhibitoria frente bacterias en estudio con una media de (18 y 20 mm), además, exhibió el nivel más elevado de actividad antioxidante, alcanzando un 79%<sup>20</sup>

España O, *et al.* (2022) En Colombia, determinaron la actividad biológica de los aceites vegetales de semillas de *Annona muricata* y *A. cherimola*. Empleando el método de microdilución en placa. Obteniendo que los aceites presentaron acción bactericida (900 µL/mL) en cinco cepas ATCC, sin embargo, esta actividad no se observó en bacterias resistentes a múltiples antibióticos<sup>21</sup>.

Lara T, y Álvarez. P (2018) En Ecuador, analizaron la acción bactericida del extracto de las semillas de guanábana *Annona muricata* frente *Streptococcus mutans*. Utilizando el método de difusión en agar. Obteniendo que el extracto de semilla evidenció un halo de 6.6 mm. Además, se evidenció que no superó al efecto inhibitorio mostrado por la clorhexidina al 0,12%. Evidenciando que el extracto de semillas no presentó acción bactericida frente la bacteria<sup>22</sup>.

Castro C, *et al.* (2021) En Lambayeque, evaluaron la acción bactericida de *Annona muricata* frente *S. aureus*, y *E. coli*. Utilizando el método de difusión. Obteniendo que se registró la mayor supresión con 1,000 mg/ml, resultando en halos de 14.6 mm y 12.33 mm, respectivamente. Sin embargo, no existió la creación de halos frente *Escherichia coli*<sup>23</sup>.

Rodríguez J (2018) En Chimbote, analizaron la acción bactericida de *Annona muricata* L. sobre *Streptococcus mutans*. Utilizando el método de difusión en pocillos. Obteniendo que existió acción bactericida en todas las concentraciones evaluadas, con el halo de inhibición más extenso observado al 80% (27.20 mm) y el halo más reducido a un 10% (9 mm). Se identificó una relación directamente proporcional al aumentar las concentraciones<sup>24</sup>.

Castro C, y Ayasta J. (2021) En Chiclayo, evaluaron el efecto bactericida de (Guanábana) frente *S. aureus* y *E. coli*, utilizando el método de difusión en agar. Obteniendo que *S. beta hemolítico* presentó mayor sensibilidad, dado que presentó

14.6 mm al 1000 mg/ml y 7.8. Por otro lado, el extracto no exhibió halos de inhibición frente *Escherichia coli*<sup>25</sup>.

La justificación teórica se centró en la expansión del conocimiento etnofarmacológico de las semillas de *Annona cherimola* (chirimoya), especialmente en su extracto etanólico. El enfoque primordial fue explorar los posibles beneficios terapéuticos de estas semillas, dado que existe una limitada información sobre sus cualidades farmacológicas. Esta tesis tiene el potencial de enriquecer la medicina natural al descubrir nuevas propiedades.

Desde una perspectiva práctica, pudo contribuir con compuestos valiosos para el tratamiento de infecciones bacterianas, aportando una variedad de opciones terapéuticas, asimismo se pretendió motivar a futuros estudiantes de ciencias farmacéuticas a investigar este recurso natural y a identificar nuevas moléculas con propiedades antibacterianas, lo que posiblemente conduzca al desarrollo de medicamentos innovadores.

En relación con la justificación metodológica, se utilizó métodos y procedimientos estandarizados como el tamizaje fitoquímico y el método de difusión en agar para los análisis correspondientes.

El objetivo general:

Determinar el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de semillas de *Annona cherimola* (Chirimoya) frente *Escherichia coli* ATCC 25922

Los objetivos secundarios:

- Identificar los tipos de metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de semillas de *Annona cherimola* (Chirimoya) responsables del efecto antibacteriano in vitro.
- Determinar el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de semillas de *Annona cherimola* (Chirimoya) frente *Escherichia coli* ATCC 25922 en la concentración del 10%, 40% y 80%



- Comparar el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de semillas de *Annona cherimola* (Chirimoya) con ciprofloxacino 5ug frente *Escherichia coli* ATCC 25922

Hipótesis general:

El extracto etanólico de semillas de *Annona cherimola* (chirimoya) presenta efecto antibacteriano in vitro frente *Escherichia coli* ATCC 25922

Hipótesis secundarios:

- El extracto etanólico de semillas de *Annona cherimola* (chirimoya) posee metabolitos secundarios responsables de actividad antibacteriana in vitro.
- El extracto etanólico de semillas de *Annona cherimola* (Chirimoya) presenta efecto antibacteriano in vitro frente *Escherichia coli* ATCC 25922 en la concentración del 10%, 40% y 80%
- El efecto antibacteriano del extracto etanólico de semillas de *Annona cherimola* (Chirimoya) es significativamente mayor comparado con ciprofloxacino 5ug frente *Escherichia coli* ATCC 25922

## II. MATERIALES Y MÉTODOS

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

**Enfoque:** cuantitativo, que implica realizar mediciones para identificar patrones, formular hipótesis nuevas y generar teorías en relación al tema de investigación<sup>26</sup>.

**Diseño:** Experimental, ya que se gestionó y reguló la variable independiente para observar su influencia en la variable dependiente<sup>27</sup>.

**Nivel:** Explicativo debido a que el objetivo de este estudio fue examinar y comprender la relación causal entre las variables y eventos analizados<sup>26</sup>.

**Corte:** Transversal, dado que la adquisición de información se efectuó en un solo instante<sup>26</sup>.

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

La población vegetal consistió en 60 kilos de frutos de *Annona cherimola* (Chirimoya), el cual se obtuvo del departamento de Lima, provincia de Huarochirí y distrito de San Mateo de Otao.

La población microbiológica consistió en *Escherichia coli* ATCC 25922.

La muestra fue 3 kg de semillas de *Annona cherimola* (Chirimoya).

La muestra microbiológica fue 10 placas petri con *Escherichia coli* ATCC 25922.

El proceso de selección de la muestra fue de forma no probabilística<sup>28</sup>.

#### **Criterios de inclusión:**

- Frutos en condiciones físicas adecuadas.
- Frutos que no muestren signos de haber empezado a germinar.

#### **Criterios de exclusión:**

- Frutos en fase de deterioro.
- Frutos que estén con daños en su estructura, contaminados por insectos.

### II.3. Variables de investigación

**Variable Independiente:** Extracto etanólico de semillas de *Annona cherimola* (Chirimoya)

Definición conceptual: Extracto obtenido de la maceración de semillas de *Annona cherimola* (Chirimoya)<sup>19</sup>.

Definición operacional: Se realizó la técnica de maceración de *Annona cherimola* (Chirimoya) a través de un solvente el cual quedó en reposo por varios días con agitación constante.

**Variable dependiente:** Efecto antibacteriano in vitro frente *Escherichia coli* ATCC 25922

Definición conceptual: Es la propiedad biológica que permite inhibir el crecimiento de *Escherichia coli* ATCC 25922<sup>29</sup>.

Definición operacional: Se evaluó mediante la medición de los halos de inhibición de los grupos en experimentación frente a las cepas bacterianas de *Escherichia coli* ATCC 25922.

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

Fue la observación. Asimismo, se realizó la marcha fitoquímica y en base al análisis bacteriano se usó la técnica de método por difusión en agar - Kirby-Bauer<sup>30</sup>.

Instrumento consistió en la ficha de observación, esta fue utilizada para recabar información correspondiente a los análisis bacterianos y fitoquímicos<sup>30</sup>.

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

#### II.5.1. Recolección

Se recolectó en el distrito de San Mateo de Otao, luego se almacenó en un envase de poliestireno expandido mientras fue transportado a Lima para llevar a cabo los análisis correspondientes.

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

La identificación taxonómica se realizó por un experto biólogo taxónomo, quien proporcionó un certificado de confirmación para la especie *Annona cherimola* (Chirimoya).

### **II.5.3. Preparación del extracto**

Se requirió un recipiente de vidrio ámbar de un litro y alcohol etílico al 96%. Este alcohol desempeñó la función de solvente para la extracción de los metabolitos. La maceración en movimiento durante un lapso de 5 días. Una vez finalizado, se procedió a filtrar el extracto y se le sometió a un proceso de evaporación utilizando una estufa, manteniendo una temperatura constante de 40°C a lo largo de 48 horas. Estas etapas se llevaron a cabo con el propósito de obtener el extracto en su forma seca, el cual posteriormente se utilizó en las evaluaciones subsiguientes<sup>31</sup>.

### **II.5.4. Análisis de solubilidad**

Se usó 0,5 gramos del extracto en forma seca y 1 mililitro de solventes apolares, alcohólicos y polares como el agua

### **II.5.5. Marcha fitoquímica del extracto**

Empleándose la técnica de Olga Lock para realizar un tamizaje fitoquímico preliminar. Se emplearon diferentes reactivos en 14 tubos de ensayo, cada uno con 1 mL del extracto fluido. Los reactivos incluyen Fehling A y B y Benedict, NaOH 10%, Cloruro férrico, Gelatina-sal, Gelatina, Wagner, Dragendorff, Shinoda, Baljet, Borntrager, Liebermann-Burchard y Mayer. Además, se utilizó los índices Afro simétrico y de espuma para la detección de saponinas<sup>32</sup>.

### **II.5.6. Análisis Microbiológico**

**Para la activación de *Escherichia coli*:** La utilización de Kwik-stik fue la metodología empleada para este procedimiento. El procedimiento consiste en aplicar presión sobre la burbuja del recipiente, lo que facilita que el líquido humectante se desplace hacia la parte inferior. Una vez concluida esta etapa, se obtuvo una muestra de la solución resultante y se transfirió al agar enriquecido<sup>33</sup>.

**Activación de las cepas:** Con el fin de lograr esto, se generó una mezcla inmediata de la variante y se reguló la opacidad siguiendo la escala McFarland 0.5 <sup>33</sup>.

**Inoculación:** compuestas agar, se preparó conforme a las instrucciones proporcionadas por el fabricante. La cepa fue cultivada en estas placas empleando un asa de siembra que fue esterilizada adecuadamente. Aplicándose la táctica de estrías cruzadas con el propósito de garantizar una disposición más equitativa del cultivo en el medio de cultivo <sup>33</sup>.

**Preparación de los discos:** Se elaboró con papel Whatman N° 1, de diámetro 6 mm. Los cuales se impregnaron con sustancias apropiadas para llevar a cabo la técnica de difusión en agar

- Semillas de *Annona cherimola* (Chirimoya) al 10 %
- Semillas de *Annona cherimola* (Chirimoya) al 40 %
- Semillas de *Annona cherimola* (Chirimoya) al 80 %
- Control positivo: Ciprofloxacino 5 ug
- Control negativo: Dimetilsulfóxido

Después, se colocó en incubación en una estufa a 37°C durante un periodo de 48 horas. Al término de este intervalo, los resultados fueron analizados siguiendo la "Escala de Duraffourd" <sup>33</sup>.

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

Se llevó a cabo la recolección de información utilizando una ficha de observación que fue integrada posteriormente en la plataforma de documentos en SPSS versión 27. Se empleó métodos estadísticos para analizar los datos, incluyendo frecuencias absolutas, frecuencias relativas y medidas de tendencia central. Además, se utilizaron herramientas estadísticas inferenciales como ANOVA y el test de Tukey para realizar un análisis estadístico de los resultados obtenidos<sup>34</sup>.

## **II.7. Aspectos éticos**

Se aplicaron procedimientos adecuados sobre bioseguridad y buenas prácticas de laboratorio en la manipulación y eliminación de residuos biológicos<sup>35</sup>.

### III. RESULTADOS

#### III.1. Prueba de solubilidad

Tabla 1. Prueba solubilidad de *Annona cherimola*

TUBO	SOLVENTE	RESULTADOS
N° 1	Éter de petróleo	-
N° 2	Diclorometano	+
N° 3	Cloroformo	+
N° 4	Butanol	+
N° 5	Etanol 96	++
N° 6	Etanol 70	+
N° 7	Metanol	++
N° 8	Agua destilada	-
N° 9	Dimetilsulfoxido	+++

Se observó la máxima solubilidad (+++) en el solvente dimetilsulfóxido; le sigue el etanol 96 y metanol con media solubilidad (++); y poca solubilidad en diclorometano, cloroformo, butanol y Etanol 70 (+).

#### III.2. Contrastación de hipótesis general

##### Hipótesis estadística

**H0:** El extracto etanólico de semillas de *Annona cherimola* (chirimoya) no presenta efecto antibacteriano in vitro frente *Escherichia coli* ATCC 25922

**H1:** El extracto etanólico de semillas de *Annona cherimola* (chirimoya) presenta efecto antibacteriano in vitro frente *Escherichia coli* ATCC 25922

Se efectuaron estadísticos para evaluar la hipótesis planteada. Los resultados indicaron que los valores obtenidos en cada grupo de estudio se encontraban dentro de los límites de confianza establecidos, respaldando así la validez de la hipótesis en la investigación. De igual manera en la tabla 2 se evidencia los resultados de los halos de inhibición del análisis microbiológico.

**Tabla 2. Promedio de los halos de inhibición**

Microorganismo	Diámetros de inhibición en mm				
	DMSO	10%	40%	80%	Ciprofloxacino 5ug
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	6	6	6	7.70	36.80
	6	6	6	7.64	36.88
	6	6	6	7.65	36.90
	6	6	6	7.64	36.91
	6	6	6	7.62	36.90
	6	6	6	7.71	36.82
	6	6	6	7.67	36.92
	6	6	6	7.63	36.90
	6	6	6	7.68	36.94
	6	6	6	7.69	36.95
<b>Media</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>7.66</b>	<b>36.89</b>

Se pudo observar que para *Escherichia coli* ATCC 25922, el DMSO no presentó actividad antibacteriana, con una media de 6.00 y una desviación estándar de 0.00000, que corresponde al diámetro del pozo de 6.00 mm. Al emplear la escala de Duraffourd, se evidenció que las concentraciones del extracto etanólico de chirimoya al 10%, 40% y 80 % evidenciaron nula sensibilidad antibacteriana con una media de (6,0000; 6,0000 y 7,6630 mm) respectivamente. Por otro, lado, la cepa se mostró sumamente sensible frente al control ciprofloxacino 5ug con una media de 36,8920.

**Tabla 3. Análisis descriptivos estadísticos de los resultados obtenidos en la prueba microbiológica de la variedad bacteriana *Escherichia coli* ATCC 25922**

95% de intervalo de confianza para la media						
		N	Media	Desviación estándar	Límite inferior	Límite superior
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	DMSO	10	6,0000	0,00000	6,0000	6,0000
	Ext. 10%	10	6,0000	0,00000	6,0000	6,0000
	Ext. 40%	10	6,0000	0,00000	6,0000	6,0000
	Ext. 80%	10	7,6630	0,03129	7,6406	7,6854
	Ciprofloxacino 5ug	10	36,8920	0,04803	36,8576	36,9264

### III.3. Contrastación de hipótesis específicas

#### a) Hipótesis Específica N° 01

**H0:** El extracto etanólico de semillas de *Annona cherimola* (chirimoya) no posee metabolitos secundarios responsables de actividad antibacteriana in vitro.

**H1:** El extracto etanólico de semillas de *Annona cherimola* (chirimoya) posee metabolitos secundarios responsables de actividad antibacteriana in vitro.

**Tabla 4. Tamizaje fitoquímico del extracto etanólico de semillas de *Annona cherimola* (Chirimoya)**

TUBO	ENSAYOS	METABOLITO	RESULTADO
N° 1	Borntrager	Antraquinonas	++
N° 2	Cloruro férrico	Compuestos fenólicos	+++
N° 3	Liebermann-Burchard	Terpenos y esteroides	-
N° 4	Dragendorff		+++
N° 5	Mayer	Alcaloides	+++
N° 6	Wagner		-
N° 7	Baljet	Lactonas $\alpha$ , $\beta$ -insaturadas	+++
N° 8	Gelatina	Taninos	+++
N° 9	Gelatina-sal		+++
N° 10	NaOH 10%	Antocianinas	+++
N° 11	Benedict		+++
N° 12	Fehling A y B	Azúcares reductores	++
N° 13	Espuma	Saponinas	-
N° 14	Shinoda	Flavonoides	-

Se llevó a cabo el análisis fitoquímico siguiendo el protocolo establecido por Olga Lock para comprobar la hipótesis. Mediante esta metodología, se evaluó la presencia de diversos compuestos secundarios con propiedades antibacterianas en el extracto de etanol derivado de las semillas de chirimoya. Se observó la presencia de compuestos fenólicos, alcaloides, lactonas  $\alpha$ ,  $\beta$ -insaturadas, taninos, antocianinas y azúcares reductores (+++). Además se detectó antraquinonas (++)



## b) Hipótesis Específica N° 02

**H0:** El extracto etanólico de semillas de *Annona cherimola* (Chirimoya) no presenta efecto antibacteriano in vitro frente *Escherichia coli* ATCC 25922 en la concentración del 10%, 40% y 80%

**H1:** El extracto etanólico de semillas de *Annona cherimola* (Chirimoya) presenta efecto antibacteriano in vitro frente *Escherichia coli* ATCC 25922 en la concentración del 10%, 40% y 80%

**Tabla 5. Prueba de ANOVA**

ANOVA						
		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
<b><i>Escherichia coli</i> ATCC 25922</b>	Entre grupos	7451,156	4	1862,789	2834815,967	0,000
	Dentro de grupos	0,030	45	0,001		
	Total	7451,186	49			

Se utilizó el análisis de varianza (ANOVA) para determinar la presencia de diferencias entre los tratamientos mediante la comparación de sus valores medios. En la tabla 5, se detectó un resultado con un valor de  $p < 0.05$  (significativo), lo que demuestra la existencia de disparidades sustanciales entre los enfoques empleados en comparación con *Escherichia coli* ATCC 25922. Con el propósito de identificar las diferencias significativas entre los distintos medios, se llevó a cabo un análisis POST HOC utilizando el procedimiento de Tukey.

**Tabla 6. Comparaciones múltiples**

(I) Grupo	(J) Grupo	Diferencia de medias (I-J)	Desv. Error	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
Ciprofloxacino 5ug	DMSO	30,89200*	0,01146	0,000	30,8594	30,9246
	10 %	30,89200*	0,01146	0,000	30,8594	30,9246
	40 %	30,89200*	0,01146	0,000	30,8594	30,9246
	80 %	29,22900*	0,01146	0,000	29,1964	29,2616
DMSO	Ciprofloxacino 5ug	-30,89200*	0,01146	0,000	-30,9246	-30,8594
	10 %	0,00000	0,01146	1,000	-,0326	0,0326
	40 %	0,00000	0,01146	1,000	-,0326	0,0326
	80 %	-1,66300*	0,01146	0,000	-1,6956	-1,6304

Se pudo observar que  $p < 0.05$  en comparaciones entre el Ciprofloxacino 5ug y los grupos experimentales al 10%, 40% y 80%, el cual manifiesta que el Ciprofloxacino 5ug muestra un efecto inhibitor significativamente mayor que los experimentales en todas las concentraciones frente *Escherichia coli* ATCC 25922.

Por otro lado, se observa que  $p > 0.05$  entre DMSO y los grupos experimentales al 10% y 40% los cuales muestran que no existen diferencias entre los conjuntos. Por otra parte, la concentración al 80% evidenció  $p < 0.05$  en comparación con el DMSO, esto manifestó que existen diferencias estadísticas.

### c) Hipótesis Específica N° 03

**H0:** El efecto antibacteriano del extracto etanólico de semillas de *Annona cherimola* (Chirimoya) no es significativamente mayor comparado con ciprofloxacino 5ug frente *Escherichia coli* ATCC 25922.

**H1:** El efecto antibacteriano del extracto etanólico de semillas de *Annona cherimola* (Chirimoya) es significativamente mayor comparado con ciprofloxacino 5ug frente *Escherichia coli* ATCC 25922.

Es posible observar que, en el caso de *Escherichia coli* ATCC 25922, los promedios de los tamaños de la zona de inhibición a distintas concentraciones del extracto etanólico de las semillas de chirimoya son más reducidos en relación a los logrados por el Ciprofloxacino 5ug. Esto pone de manifiesto que el agente antibacteriano utilizado como referencia positiva presenta una media de inhibición más amplia (36,8920 mm) que los grupos de experimentación.

**Tabla 7. Prueba de subconjuntos de Tukey**

HSD Tukey <sup>a</sup>				
Grupo	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
DMSO	10	6,0000		
10 %	10	6,0000		
40 %	10	6,0000		
80 %	10		7,6630	
Ciprofloxacino 5ug	10			36,8920
Sig.		1,000	1,000	1,000

## IV. DISCUSIÓN

### IV.1. Discusión de resultados

La creciente resistencia a los tratamientos de *Escherichia coli* plantea un desafío apremiante en el campo de la medicina. Comúnmente asociada con infecciones del tracto urinario y gastrointestinales, ha desarrollado una preocupante resistencia a los antibióticos utilizados para tratar estas afecciones. La resistencia de *E. coli* a los antibióticos es un problema crítico que requiere medidas urgentes para preservar la eficacia de los antimicrobianos y garantizar la seguridad de los pacientes.

En relación con el objetivo general, se identificó que el extracto etanólico de semillas de *Annona cherimola* (Chirimoya) no presentó actividad bactericida en todas las concentraciones del 10%, 40% y 80% sobre *Escherichia coli* con nula sensibilidad de (6,00; 6,00 y 7.66 mm) respectivamente. Guardando similitud con el estudio de **Castro C, et al. (2021)**, quienes al analizar la acción bactericida de *Annona muricata* en concentraciones de 125 mg/ml, 250 mg/ml y 500 mg/ml frente *Escherichia coli*. no obtuvo halos de inhibición con efecto antibacteriano<sup>23</sup>. La ausencia de inhibición se atribuye a la carencia de compuestos en los extractos de *Annona cherimola* y *Annona muricata* que presenten propiedades bactericidas efectivas contra *Escherichia coli* en las concentraciones analizadas. Por otro lado, difiere con el estudio de **España O, et al. (2022)**, quienes al evaluar la acción bactericida de las semillas de *Annona muricata* y *A. cherimola*. Obtuvieron que hubo acción bactericida (900 µL/mL) en cinco cepas ATCC, sin embargo, esta actividad no se observó en bacterias resistentes a múltiples antibióticos<sup>21</sup>. Esto se debe a las variaciones en la composición química de los extractos de *Annona cherimola* y *Annona muricata*, lo que afecta su capacidad para inhibir el crecimiento bacteriano. Estas diferencias químicas pueden relacionarse con la especie de planta, las condiciones de cultivo y la preparación de los extractos, lo que repercute en su efectividad contra las bacterias y explica las disparidades en los resultados.

En relación con el objetivo específico 1, en el tamizaje fitoquímico se identificó compuestos fenólicos, alcaloides, lactonas  $\alpha$ ,  $\beta$ -insaturadas, taninos, antocianinas y azúcares reductores. El mismo que coincide con el estudio de **Carranza, C y Condori D. (2022)**, quienes al evaluar el tamizaje fitoquímico de *Annona muricata* L. encontraron metabolitos secundarios: compuestos fenólicos, taninos, alcaloides

y flavonoides<sup>36</sup>. Debido a la similitud genética y filogenética de estas dos especies, lo que conduce a perfiles fitoquímicos parecidos debido a adaptaciones evolutivas compartidas en su capacidad para defenderse contra patógenos y herbívoros.

Conforme al objetivo específico 2, se identificó que el extracto etanólico de semillas de Chirimoya no presentó efecto antibacteriano al 10%, 40% y 80% sobre *Escherichia coli*. El mismo que coincide con el estudio **Castro C, y Ayasta J. (2021)** quienes al evaluar el extracto etanólico de *Annona muricata*, obtuvieron que no presentó actividad antibacteriana frente *E. coli* mostrando nula inhibición (5.00 mm) cuando se evaluó los halos<sup>25</sup>. La falta de actividad antibacteriana en ambos extractos, tanto en las semillas de Chirimoya como en *Annona muricata*, se debe a que no lograron inhibir el crecimiento de *Escherichia coli*. Esto indica que, en las condiciones y concentraciones estudiadas, los componentes de los extractos no presentaron acción antimicrobiana efectiva contra esta cepa bacteriana. Por otro lado difiere con el estudio de **Rodríguez J (2018)**, quien al evaluar la acción bactericida de *Annona muricata*, obtuvo un halo de inhibición evidente de 27.20 mm en la concentración del 80% frente *Streptococcus mutans*<sup>24</sup>. Estas diferencias indican que los extractos poseen propiedades antibacterianas distintas y sugieren variaciones en su capacidad de inhibición bacteriana bajo las condiciones de los experimentos.

Conforme al objetivo específico 3, se constató que los promedios de la zona de inhibición a distintas concentraciones del extracto etanólico de Chirimoya frente a *Escherichia coli* fueron menores frente a ciprofloxacino 5ug con 36,8920 mm. El mismo que coincide con el estudio de **Lara T, y Álvarez. P (2018)**, quienes al analizar si el extracto de las semillas de *Annona muricata* superaba el efecto inhibidor de la Clorhexidina frente una bacteria ATCC. Encontraron que las concentraciones del 5%, 15% y 25% fueron inferiores a los obtenido por el fármaco de referencia (17,00 mm)<sup>22</sup>. Esto podría relacionarse con diferencias en la concentración de compuestos activos en los extractos o a la naturaleza de dichos compuestos, que son menos efectivos en la inhibición bacteriana en comparación con ciprofloxacino y clorhexidina 0.12%.

La falta del efecto antibacteriano observada con el extracto etanólico de semillas de *Annona cherimola* (Chirimoya) frente a *Escherichia coli* ATCC 25922 mediante

el método de difusión en agar en disco puede atribuirse a varios motivos entre ellos la variabilidad en la actividad de los compuestos, la actividad antibacteriana de los compuestos presentes en las plantas puede ser altamente variable debido a factores como la madurez de las semillas, la temporada de cosecha y las condiciones de crecimiento de la planta, esto puede influir en la cantidad y tipo de compuestos bioactivos presentes en el extracto<sup>37</sup>.

De igual importancia, la susceptibilidad de una cepa bacteriana a los compuestos antimicrobianos puede variar ampliamente. Es posible que *Escherichia coli* ATCC 25922 sea menos sensible a los compuestos presentes en el extracto de Chirimoya en comparación con otras cepas bacterianas. Por otro lado, los compuestos en los extractos vegetales pueden interactuar de manera compleja con otros componentes del medio de cultivo o con los propios componentes del extracto, lo que puede disminuir su efectividad.

Asimismo, el método de difusión en agar en disco es una técnica inicial de detección de actividad antibacteriana, sin embargo, las formas complementarias de medir cuantitativamente la actividad in vitro son la concentración mínima inhibitoria (MIC) y la concentración mínima bactericida (MBC), para comprender completamente la falta de efecto y su relevancia clínica<sup>38</sup>.

Finalmente, la concentración del extracto utilizada en el ensayo puede haber sido insuficiente para mostrar actividad antimicrobiana, es posible que dosis más altas o la optimización de las condiciones de prueba sean necesarias como el método de difusión Kirby - Bauer modificado o en pozos<sup>39</sup>.

## IV.2. Conclusiones

- Se concluye que el extracto etanólico de semillas de *Annona cherimola* (Chirimoya) no presentó efecto antibacteriano in vitro frente *Escherichia coli* ATCC 25922.
- Los análisis fitoquímicos desarrollados demuestran abundante presencia (+++), de compuestos fenólicos, alcaloides, lactonas  $\alpha$ ,  $\beta$ -insaturadas, taninos, antocianinas y azúcares reductores; seguido de antraquinonas.
- Todas las concentraciones (10%, 40% y 80%) del extracto etanólico de semillas de *Annona cherimola* (Chirimoya) no presentaron efecto antibacteriano.
- Se concluye que las concentraciones del 10%, 40% y 80% del extracto etanólico de semillas de *Annona cherimola* (Chirimoya) frente *Escherichia coli* ATCC 25922 fueron menores al ciprofloxacino 5ug (36,8920 mm).

### IV.3. Recomendaciones

- Utilizar métodos de extracción alternativos que puedan aumentar la eficacia en la liberación de compuestos bioactivos de las semillas de Chirimoya, como la extracción en frío o caliente, para asegurarse de que se estén obteniendo todos los compuestos relevantes.
- Realizar pruebas con diferentes concentraciones para determinar si existe un umbral efectivo.
- Proponer análisis de concentración mínima inhibitoria (MIC) y la concentración mínima bactericida (MBC) para la identificación de la actividad antibacteriana.
- Ampliar el alcance de futuros estudios para incluir otras cepas de bacterias patógenas, lo que permitiría una evaluación más completa de las propiedades antimicrobianas de los extractos de *Annona cherimola*.



## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. 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/>
2. Contreras R, Escorcía A, Velarde J. Prevalence and impact of antimicrobial resistance in gastrointestinal infections: A review. *Rev Gastroenterol México (English Ed)* [Internet]. 2021;86(3):265–75. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34158260/>
3. Khalil I, Troeger C, Blacker B, Rao P, Brown A, Atherly D, et al. Morbidity and mortality due to shigella and enterotoxigenic *Escherichia coli* diarrhoea: the Global Burden of Disease Study 1990–2016. *Lancet Infect Dis* [Internet]. 2018;18(11):1229–40. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30266330/>
4. Alqasim A, Abu Jaffal A, Alyousef A. Prevalence of multidrug resistance and extended-spectrum  $\beta$ -Lactamase carriage of clinical uropathogenic *Escherichia coli* isolates in Riyadh, Saudi Arabia. *Int J Microbiol* [Internet]. 2018;1–9. Available from: <https://www.hindawi.com/journals/ijmicro/2018/3026851/>
5. Borujerdi S, Ardakani M, Rezaatofghi S. Characterization of diarrheagenic *Escherichia coli* strains associated with diarrhea in children, Khouzestan, Iran. *J Infect Dev Ctries* [Internet]. 2018;12(8):649–56. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31958328/>
6. Margulieux K, Srijan A, Ruekit S, Nobthai P, Poramathikul K, Pandey P, et al. Extended-spectrum  $\beta$ -lactamase prevalence and virulence factor characterization of enterotoxigenic *Escherichia coli* responsible for acute diarrhea in Nepal from 2001 to 2016. *Antimicrob Resist Infect Control* [Internet]. 2018;7(87):1–7. Available from: <https://aricjournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13756-018-0377-2#citeas>
7. Getaneh D, Hordofa L, Ayana D, Tessema T, Regassa L. Prevalence of *Escherichia coli* O157:H7 and associated factors in under-five children in Eastern Ethiopia. *PLoS One* [Internet]. 2021;16(1):1–15. Available from: [https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33508023/#:~:text=Conclusion%3A The](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33508023/#:~:text=Conclusion%3A%20The)

- Prevalence of E, and hygiene in a household.
8. Pakbin B, Brück W, Brück T, Allahyari S, Ashrafi I. A quantitative prevalence of *Escherichia coli* O157 in different food samples using real-time qPCR method. *Food Sci Nutr* [Internet]. 2022;1–8. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/fsn3.3055>
  9. El Tiempo Latino. Brote de la bacteria *E. coli* afecta a seis estados de EEUU [Internet]. 05 de septiembre. 2022. Available from: <https://eltiempolatino.com/2022/09/05/salud/brote-de-e-coli-afecta-a-seis-estados-de-eeuu/>
  10. EL FINANCIERO. ¿Es el calor o el COVID? Esta es la razón del aumento de casos de diarrea en México [Internet]. 20 de julio. 2022. Available from: <https://www.elfinanciero.com.mx/salud/2022/07/20/es-el-calor-o-el-covid-esta-es-la-razon-por-la-que-han-aumentado-los-casos-de-diarrea-en-mexico/>
  11. CDC-PERÚ. Situación epidemiológica de las Enfermedades Diarreicas Agudas (EDA) en el Perú, 2019. *Boletín Epidemiológico del Perú* [Internet]. 2020;29(1):5–10. Available from: <https://www.dge.gob.pe/portal/docs/vigilancia/boletines/2019/04.pdf>
  12. Huayanay C, Aldoradin V, Santa A. Presencia de *Escherichia coli* en la playa Pucusana, Lima, y su potencial efecto en la salud pública. *Acta Medica Peru* [Internet]. 2022;39(1):31–9. Available from: [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1728-59172022000100031#:~:text=Resultados%3A,peruana la calificación es inaceptable.](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1728-59172022000100031#:~:text=Resultados%3A,peruana la calificación es inaceptable.)
  13. Miranda J, Pinto J, Faustino M, Jacinto B, Ramirez F. Resistencia antimicrobiana de uropatógenos en adultos mayores de una clínica privada de Lima, Perú. *Rev Peru Med Exp Salud Publica* [Internet]. 2019;36(1):87–92. Available from: <https://rpmesp.ins.gob.pe/index.php/rpmesp/article/view/3765>
  14. Ministerio de salud del Perú. La resistencia antimicrobiana [Internet]. 24 de diciembre. 2022. Available from: <https://www.gob.pe/15585-la-resistencia-antimicrobiana>
  15. Nji E, Kazibwe J, Hambridge T, Joko C, Larbi A, Dampthey L, et al. High prevalence of antibiotic resistance in commensal *Escherichia coli* from

- healthy human sources in community settings. *Sci Rep* [Internet]. 2021;11(1):1–11. Available from: <https://www.nature.com/articles/s41598-021-82693-4>
16. Devi L, Broor S, Rautela R, Grover S, Chakravartil A, Chattopadhy D. Increasing Prevalence of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* Producing CTX-M-Type Extended-Spectrum Beta-Lactamase, Carbapenemase, and NDM-1 in Patients from a Rural Community with Community Acquired Infections: A 3-Year Study. *Int J Appl Basic Med Res* [Internet]. 2020;10(3):156–63. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7534723/>
  17. Quispe C, Romero D. Contaminacion con *Escherichia coli* en tipos de aderezos expendidos en puestos de comida de un mercado de Huancayo-2020 [Internet]. Universidad Peruana Los Andes; 2021. Available from: <https://repositorio.upla.edu.pe/handle/20.500.12848/3116>
  18. Moreno M. Efecto antibacteriano in vitro de extractos etanólicos de orégano, tomillo y salvia sobre cepas de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa* con resistencia múltiple [Internet]. Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo; 2020. Available from: [https://repositorio.unprg.edu.pe/handle/20.500.12893/8421#:~:text=Se concluyó que los extractos,susceptibles a los tres extractos](https://repositorio.unprg.edu.pe/handle/20.500.12893/8421#:~:text=Se%20concluy%20que%20los%20extractos,susceptibles%20a%20los%20tres%20extractos)
  19. Perrone A, Yousefi S, Salami A, Papini A, Martinelli F. Botanical, genetic, phytochemical and pharmaceutical aspects of *Annona cherimola* Mill. *ELSEVIER* [Internet]. 2022;296(1):1–100. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S030442382200022X>
  20. León A, Martínez L, Zepeda L, Arteaga R, Gutiérrez P, Montalvo E. Antibacterial, antifungal, antioxidant and toxic effect of fractioned extracts from Soursop pulp. *Rev bio ciencias* [Internet]. 2019;6(1):1–17. Available from: [https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2007-33802019000100139](https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-33802019000100139)
  21. España O, Ortiz A, Eraso S, Hurtado A, Mena J. Actividad biológica de los aceites de semillas de *Annona muricata* y *A. cherimola*. *Boletín Latinoam Y Del Caribe Plantas Med Y Aromáticas* [Internet]. 2022;22(3):360–76. Available from: <https://blacpma.ms-editions.cl/index.php/blacpma/article/view/345>

22. Lara T, Álvarez P. Efecto antimicrobiano del extracto de hoja y semilla de guanábana (*annona muricata*) en diferentes concentraciones sobre *streptococcus mutans*. Estudio comparativo in vitro [Internet]. [Tesis para obtener el grado profesional de Odontólogo] Universidad Central del Ecuador; 2018. Available from:  
<http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/14866>
23. Castro C, Ayasta J, Santa C, Moreno M. Efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Annona muricata* sobre microorganismos de importancia clínica. *Gac Medica Boliv* [Internet]. 2021;44(1):29–33. Available from:  
<https://www.gacetamedicaboliviana.com/index.php/gmb/article/view/95>
24. Rodríguez J. Efecto antibacteriano de las concentraciones del extracto etanólico de hojas de *Annona Muricata* L. sobre cepas de *Streptococcus Mutans* ATCC 25175 [Internet]. [Tesis para obtener el grado profesional de odontólogo] Universidad Católica los Ángeles de Chimbote; 2018. Available from: <http://repositorio.uladech.edu.pe/handle/20.500.13032/4995>
25. Castro C, Ayasta J. Susceptibilidad de cepas de *staphylococcus aureus*, *streptococcus beta hemolítico* y *escherichia coli* frente al extracto etanólico de hojas de *annona muricata* “guanábana” [Internet]. [Tesis para obtener el título de licenciado en Biología - Microbiología-y Parasitología] Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo; 2018. Available from:  
<https://repositorio.unprg.edu.pe/handle/20.500.12893/3022>
26. Hernandez R, Mendoza C. Metodología de la Investigación. Ciudad de México: Mc Graw Hill; 2018. 714 p.
27. Baena G. Metodología de la Investigación. 3 ed. Grupo Editorial Patria; 2017. 141 p.
28. Ioachimescu O. Metodología de la investigación médica, ¿A dónde vas? *J Investig Med*. 2021;69(1):2–3.
29. Perreira R, Fontenelle R, Brito E, Morais S. Biofilm of *Candida albicans*: formation, regulation and resistance Get access Arrow. *J Appl Microbiol* [Internet]. 2021;131(1):11–22. Available from:  
<https://academic.oup.com/jambio/article-abstract/131/1/11/6715364?login=false>
30. Gallardo E. Metodología de la Investigación. 1 ed. Huancayo: Universidad Continental; 2017. 96 p.

31. Bruneton J. Farmacognosia. Fitoquímica. Plantas medicinales. 1st ed. Zaragoza: Acribia; 2001. 1120 p.
32. Lock O. Investigación fitoquímica: métodos en el estudio de productos naturales. 3rd ed. Lima: Pontificia universidad católica del Perú; 2016. 287 p.
33. Instituto Nacional de Salud. Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión. 1st ed. Lima: Ministerio de salud; 2002. 67 p.
34. Castro E. Bioestadística aplicada en investigación clínica: conceptos básicos. REV MED CLIN CONDES [Internet]. 2019;30(1):1–10. Available from: doi: 10.1016/j.rmclc.2018.12.002
35. Brítez J. La Ética en investigaciones humanas y el Comité de Ética. Rev virtual Soc Parag Med Int. 2016;3(1):8–10.
36. Carranza C, Condori D. Actividad antibacteriana in vitro del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* L. “guanábana” frente a *Escherichia coli* ATCC 8739 [Internet]. [Tesis de grado] Universidad Privada de Huancayo Franklin Roosevelt; 2022. Available from: <https://renati.sunedu.gob.pe/handle/sunedu/3365830>
37. Charalampos K, Christos R, Panagiotis G, Sotirios K, Konstantoula A. The variation of the chemical composition of the main plant species in a subalpine grassland in northwestern Greece. Legum Sci. 2019;1(1):1–10.
38. Martínez J, Pacheco M, Rada I. Comparación de concentración mínima inhibitoria y concentración plasmática de cefalotina mediante un modelo matemático. Rev Cuba Farm. 2013;47(2):1–10.
39. Yin D, Guo Y, Han R, Yang Y, Zhu D, Hu F. A modified Kirby-Bauer disc diffusion (mKB) method for accurately testing tigecycline susceptibility: a nation-wide multicenter comparative study. J Med Microbiol. 2023;72(8):1–10.

## ANEXO

### ANEXO A. Instrumentos de recolección de datos

N°

Frente a *Escherichia coli* ATCC 25922

	DMSO	Ciprofloxacino 5 ug	Ext 10 %	Ext 40 %	Ext 80 %
1					
2					
3					
4					
5					
6					
7					
8					
9					
10					

### Instrumento para marcha fitoquímica

<b>Metabolitos secundarios</b>	<b>Reactivos</b>	<b>Resultado</b>
<b>Quinonas</b>	Borntrager	
<b>Compuestos fenólicos</b>	FeCl <sub>3</sub>	
<b>Flavonoides</b>	Shinoda	
<b>Antocianinas</b>	NaOH 10%	
<b>Taninos</b>	Gelatina	
<b>Taninos</b>	Gelatina Sal	
<b>Alcaloides</b>	Dragendorff	
<b>Alcaloides</b>	Wagner	
<b>Alcaloides</b>	Mayer	
<b>Triterpenos y Esteroides</b>	Liebermann Burchard	
<b>Lactonas <math>\alpha</math>, <math>\beta</math> insaturadas</b>	Baljet	
<b>Azucares Reductores</b>	Benedict	
<b>Azucares Reductores</b>	Fehling	
<b>Saponinas</b>	Espuma	

### Instrumento para ensayo de Solubilidad

<b>TUBO</b>	<b>SOLVENTES</b>	<b>RESULTADOS</b>
N° 1	Éter de petróleo	
N° 2	Diclorometano	
N° 3	Cloroformo	
N° 4	Butanol	
N° 5	Etanol de 70°	
N° 6	Metanol	
N° 7	Agua destilada	
N° 8	Dimetilsulfóxido	

## ANEXO B. Matriz de consistencia

Formulación del problema	Objetivos	Hipótesis
<b>Problema General</b>	<b>Objetivo General</b>	<b>Hipótesis General</b>
¿Cuál es el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de semillas de <i>Annona cherimola</i> (Chirimoya) frente <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922?	Determinar el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de semillas de <i>Annona cherimola</i> (Chirimoya) frente <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	El extracto etanólico de semillas de <i>Annona cherimola</i> (chirimoya) presenta efecto antibacteriano in vitro frente <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922
<b>Problemas Específicos</b>	<b>Objetivos Específicos</b>	<b>Hipótesis Específicas</b>
¿Qué tipo de metabolitos secundarios responsables del efecto antibacteriano in vitro poseerá el extracto etanólico de semillas de <i>Annona cherimola</i> (Chirimoya)?	Identificar los tipos de metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de semillas de <i>Annona cherimola</i> (Chirimoya) responsables del efecto antibacteriano in vitro	El extracto etanólico de semillas de <i>Annona cherimola</i> (chirimoya) posee metabolitos secundarios responsables de actividad antibacteriana in vitro.
¿El extracto etanólico de semillas de <i>Annona cherimola</i> (Chirimoya) tendrá efecto antibacteriano in vitro frente <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 en la concentración del 10%, 40% y 80%?	Determinar el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de semillas de <i>Annona cherimola</i> (Chirimoya) frente <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 en la concentración del 10%, 40% y 80%	El extracto etanólico de semillas de <i>Annona cherimola</i> (Chirimoya) presenta efecto antibacteriano in vitro frente <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 en la concentración del 10%, 40% y 80%
¿Cuál es el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de semillas de <i>Annona cherimola</i> (Chirimoya) comparado con ciprofloxacino 5ug frente <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922?	Comparar el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de semillas de <i>Annona cherimola</i> (Chirimoya) con ciprofloxacino 5ug frente <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	El efecto antibacteriano del extracto etanólico de semillas de <i>Annona cherimola</i> (Chirimoya) es significativamente mayor comparado con ciprofloxacino 5ug frente <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922



### ANEXO C. Operacionalización de las variables

VARIABLES	DIMENSIONES	INDICADORES	ESCALA DE MEDICIÓN	N° DE ÍTEMS	VALOR
<p>VARIABLE INDEPENDIENTE</p> <p>Extracto etanólico de semillas de <i>Annona cherimola</i> (Chirimoya)</p>	Fitoquímica	Marcha fitoquímica	Ordinal	13	<p>(-) Ausente</p> <p>(+) Leve</p> <p>(++) Moderado</p> <p>(+++ Abundante</p>
<p>VARIABLE DEPENDIENTE</p> <p>Efecto antibacteriano in vitro frente <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922</p>	<p>Microbiológico</p> <p>(Método de difusión en agar)</p>	Medición de diámetro inhibición (mm)	Razón	10	<p>&lt;8 mm: nulo (-)</p> <p>8 – 14 mm: Sensibilidad baja o límite (+)</p> <p>14 – 20 mm: Sensibilidad media (++)</p> <p>&gt;20 mm: Sumamente sensible (+++)</p>

## ANEXO D. Certificado Taxonómico

José R. Campos de la Cruz  
CONSULTOR BOTÁNICO  
C. B. P. 3796  
Cel: 963689079  
Email: jocamde@gmail.com



### 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 Nº 0311-2013- MINAGRI-DGFFS-DGEFFS.

#### CERTIFICA:

Que, los Bachilleres SULCA NEIRA MARISELA LISSETH y PAUCARCAJA REYMUENDO KELLY GISEÑA, tesis de la Universidad María Auxiliadora, Facultad de Ciencias de la Salud, Escuela Académico Profesional de Farmacia y Bioquímica, con fines de investigación para desarrollar el proyecto de tesis titulado: EFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE SEMILLAS DE *Annona cherimola* (Chirimoya) FRENTE *Escherichia coli* ATCC 25922, han solicitado la identificación y certificación botánica de una planta procedente del departamento de Lima, provincia de Huarochiri, distrito de San Mateo de Otazo, Fundo Salpin, donde es cultivada con el nombre vulgar de “chirimoya”, la muestra ha sido identificada como *Annona cherimola* Mill. Según la base de datos W<sup>3</sup>Tropicos del Missouri Botanical Garden, que siguen el sistema moderno de clasificación de las angiospermas (APG), publicado en 1998 por el Grupo para la Filogenia de las Angiospermas, revisado por APG II (2003), APG III (2009), actualizado por APG IV (2016), el sistema APG evita el uso de la nomenclatura taxonómica clásica por arriba de orden. Chase & Reveal en APG III (2009) consideran a todas las plantas verdes en la Clase Equisetopsida. Teniendo en cuenta los datos de W<sup>3</sup>Tropicos, APG III y APG IV, para la especie identificada se adapta las siguientes categorías taxonómicas y clados:

Reino: Plantae  
División: Angiospermas  
Clase: Equisetopsida  
Subclase: Magnoliidae  
Superorden: Magnoliales  
Orden: Magnoliales  
Familia: Annonaceae  
Género: *Annona*  
Especie: *Annona cherimola* Mill.

Nombre vulgar: Chirimoya

Se expide la presente certificación para fines de investigación científica.

Lima, 24 de octubre del 2023



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

## ANEXO E. Informe de análisis de laboratorio



"Año de la unidad, la paz y el desarrollo"

### Informe de Resultados

Solicitado por: Bach. SULCA NEIRA MARISELA LISSETH  
Bach. PAUCARCAJA REYMUNDO KELLY GISEÑA  
Muestra: EXTRACTO ETANÓLICO DE SEMILLAS DE *Annona cherimola*  
Cantidad: 10.75 gr  
Fecha de ensayo: 14-10-2023

Microorganismo	Diámetros de inhibición en mm				
	80%	40%	10%	Ciprofloxacino 5ug	DMSO
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	7.70	6	6	36.80	6
	7.64	6	6	36.88	6
	7.65	6	6	36.90	6
	7.64	6	6	36.91	6
	7.62	6	6	36.90	6
	7.71	6	6	36.82	6
	7.67	6	6	36.92	6
	7.63	6	6	36.90	6
	7.68	6	6	36.94	6
	7.69	6	6	36.95	6

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

\*Concentración del inóculo:  $1.5 \times 10^8$  UFC/mL

Lic. T.M. Walter A. Siri Rodriguez

CTMP. 10808

---

Jr. Comercio N° 597 Pachacámac Telf. 2311053 Cel. 941708196- 993446913

# ANEXO F. Certificado de Agar Mueller Hinton



## CERTIFICATE OF ANALYSIS

**PRODUCT** CM0337B  
**MUELLER HINTON AGAR** 500g

**LOT NUMBER** 3681362

**EXPIRY DATE** 2028.06.05

**DATE OF MANUFACTURE** 2023.06.07

Delivery/Customer information
Date Printed 2023.06.30
Delivery No.
Customer
Customer Order Number

Physical Characteristics	Results	Specification
Appearance	Straw powder	Straw powder
Colour on reconstitution	Straw 2-3	Straw 2-3
pH (25°C)	7.3	7.2 - 7.4
Clarity	Clear	Clear

### Microbiological Performance

Antibiotic susceptibility tests are performed in accordance with, and meet the acceptance limits of, the current ISO/TS 16782. Performance is assessed using EUCAST methodology.

#### *Staphylococcus aureus* ATCC@25923 WDCM00034

Incubation at 35 ± 1°C for 16-20 hours in ambient air

	Zone Size (mm)	Limits (mm)
Erythromycin E15	29	22 - 30
Tetracycline TE30	27	24 - 30
Ciprofloxacin CIP5	26	22 - 30
Amoxicillin-clavulanate AMC30	34	28 - 36
Ampicillin-sulbactam SAM20	35	29 - 37
Linezolid LZD30	25	25 - 32
Cefoxitin FOX30	29	23 - 29
Gentamicin CN10	26	19 - 27
Penicillin P10	35	26 - 37

#### *Staphylococcus aureus* ATCC@29213 WDCM00131

Incubation at 35 ± 1°C for 16-20 hours in ambient air

	Zone Size (mm)	Limits (mm)
Penicillin P1	15	12 - 18
Cefoxitin FOX30	28	24 - 30
Ciprofloxacin CIP5	22	21 - 27
Erythromycin E15	25	23 - 29
Gentamicin CN10	22	19 - 25
Linezolid LZD10	22	21 - 27
Tetracycline TE30	26	23 - 31



Tested by the Quality Control Laboratory  
**OXOID LIMITED**  
 Wade Road, Basingstoke, Hampshire RG24 8PW, England  
[oxoid@thermofisher.com](mailto:oxoid@thermofisher.com) [www.oxoid.com](http://www.oxoid.com)

FDA Reg No. 8010096

Certificate No. FM 09914

**CERTIFICATE OF ANALYSIS**

**PRODUCT** CM0337B  
**MUELLER HINTON AGAR** 500g  
**LOT NUMBER** 3681362

***Staphylococcus aureus* ATCC@43300 WDCM00211****Incubation at 35 ± 1°C for 24 hours in ambient air**

	<b>Zone Size (mm)</b>	<b>Limits (mm)</b>
Cefoxitin FOX30	11	<21

***Staphylococcus aureus* NCTC12493 WDCM00212****Incubation at 35 ± 1°C for 24 hours in ambient air**

Cefoxitin FOX30	20	14 - 20
-----------------	----	---------

***Escherichia coli* ATCC@25922 WDCM00013****Incubation at 35 ± 1°C for 16-20 hours in ambient air**

Ampicillin AMP10	16	15 - 22
Chloramphenicol C30	24	21 - 27
Gentamicin CN10	20	19 - 26
Trimethoprim-sulfamethoxazole SXT25	29	23 - 29
Amoxicillin-clavulanate AMC30	20	18 - 24
Ciprofloxacin CIP5	33	30 - 40
Sulfisoxazole SF300	21	15 - 23
Tetracycline TE30	22	18 - 25
Cefotaxime CTX5	28	25 - 31
Tigecycline TGC15	22	20 - 27

***Escherichia coli* ATCC@35218****Incubation at 35 ± 1°C for 16-20 hours in ambient air**

Amoxicillin-clavulanate AMC30	20	17 - 22
-------------------------------	----	---------

***Pseudomonas aeruginosa* ATCC@27853 WDCM00025****Incubation at 35 ± 1°C for 16-20 hours in ambient air**

Gentamicin CN10	19	16 - 21
Imipenem IPM10	22	20 - 28
Aztreonam ATM30	24	23 - 29
Ciprofloxacin CIP5	25	25 - 33
Tobramycin TOB10	23	19 - 25
Ceftazidime CAZ10	24	21 - 27
Piperacillin-tazobactam TZP36	25	23 - 29

***Enterococcus faecalis* ATCC@33186 WDCM00210****Incubation at 35 ± 1°C for 16-20 hours in ambient air**

Trimethoprim-sulfamethoxazole SXT25	25	20 -
-------------------------------------	----	------

***Enterococcus faecalis* ATCC@29212 WDCM00087****Incubation at 35 ± 1°C for 16-20 hours in ambient air**

Ampicillin AMP2	18	15 - 21
Imipenem IPM10	26	24 - 30
Linezolid LZD10	22	19 - 25
Nitrofurantoin F100	22	18 - 24



Tested by the Quality Control Laboratory  
**OXOID LIMITED**  
 Wade Road, Basingstoke, Hampshire RG24 8PW, England  
[oxoid@thermofisher.com](mailto:oxoid@thermofisher.com) [www.oxoid.com](http://www.oxoid.com)

**CERTIFICATE OF ANALYSIS**

**PRODUCT** CM0337B  
**LOT NUMBER** MUELLER HINTON AGAR 500g  
 3681362

Trimethoprim W5	30	24 - 32
Trimethoprim-sulfamethoxazole SXT25	31	26 - 34
Vancomycin VA5	13	10 - 16

***Streptococcus pneumoniae* ATCC®49619**  
 Enriched with 5% v/v horse blood and 20mg/L B-NAD  
 Incubation at 35 ± 1°C for 18-20 hours in 5% CO<sub>2</sub>

	Zone Size (mm)	Limits (mm)
Vancomycin VA5	21	<23

***Haemophilus influenzae* ATCC®49247**  
 Enriched with 5% v/v horse blood and 20mg/L B-NAD  
 Incubation at 35 ± 1°C for 18-20 hours in 5% CO<sub>2</sub>

Ampicillin AMP2	10	6 - 12
-----------------	----	--------

***Haemophilus influenzae* ATCC®49766**  
 Enriched with 5% v/v horse blood and 20mg/L B-NAD  
 Incubation at 35 ± 1°C for 18-20 hours in 5% CO<sub>2</sub>

Cefixime CFM5	31	29 - 35
---------------	----	---------

Control Medium: Mueller-Hinton Agar

Refer to product specification for full details.

The information given is believed to be correct, all results reported in this certificate relate only to the product and lot stated in this certificate of analysis. However, both the information and the product are offered without warranty for any application other than that specified in the current Oxoid Manual. This certificate shall not be reproduced except in full, without written approval of the Quality Control Laboratory, Oxoid Limited, Basingstoke.

The results reported were obtained at the time of release.  
 Lot Accepted. 2023.06.16

*Cariss Courtney*

.....  
 Carissa Courtney  
 Director Quality, EMEA

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



Tested by the Quality Control Laboratory  
 OXOID LIMITED  
 Wade Road, Basingstoke, Hampshire RG24 8PW, England  
 oxoid@thermofisher.com www.oxid.com

FDA Reg No. 8010096

Certificate No. FM 09914

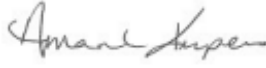




# ANEXO G. Certificado de análisis de Cepa *Escherichia coli* ATCC 25922



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

<p><b>SPECIFICATIONS:</b>  <b>Product Name:</b> Escherichia coli  <b>Catalog Number:</b> 0335  <b>Lot Number:</b> 335-550**  <b>Reference Number:</b> ATCC® 25922™*  <b>Passage from Reference:</b> 2  <b>Expiration Date:</b> 2024/08/31</p>	<p><b>RELEASE INFORMATION:</b>  <b>Quality Control Technologist:</b> Jacob A Lohman  <b>Release Date:</b> 2022/09/23</p>
---	--

<b>Performance</b>	
<p><b>Macroscopic Features:</b>                  2 colony types, both are gray &amp; beta hemolytic: one is circular to irregular, convex, slightly erose edge &amp; smooth; other is larger, irregular, low convex, erose edge &amp; rough</p> <p><b>Microscopic Features:</b>                  Gram negative straight rod</p> <p><b>ID System:</b> MALDI-TOF (1)</p> <p>See attached ID System results document.</p> <p><b>Other Features/ Challenges: Results</b></p> <p>(1) Oxidase (Kovacs): negative                  Beta-glucuronidase (E. coli Broth w/MUG): positive                  (1) Ampicillin (10 mcg - Disk Susceptibility): 15 - 22 mm                  (1) Gentamicin (10 mcg - Disk Susceptibility): 19 - 26 mm                  (1) SXT (1.25/23.75 mcg - Disk Susceptibility): 23 - 29 mm</p>	<p><b>Medium:</b>                  SBAP</p> <p><b>Method:</b>                  Gram Stain (1)</p> <div style="text-align: right;">                       Amanda Kuperus                      Director of Quality Control                      AUTHORIZED SIGNATURE                 </div>
<p>**Disclaimer: The last digit(s) of the lot number appearing on the product label and packing slip are merely a packaging event number. The lot number displayed on this certificate is the actual base lot number.</p> <p><u>Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information.</u></p> <p>Individual products are traceable to a recognized culture collection.</p> <p>(1) These tests are accredited to ISO/IEC 17025.</p> <div style="display: flex; align-items: center;">  <div style="margin-left: 10px;"> <p>TESTING CERT #2655.01</p> <p>ATCC Licensed Derivative</p> </div> <div style="margin-left: 20px;"> <p>(*) 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.</p> </div> </div> <div style="display: flex; align-items: center; margin-top: 10px;">  <div style="margin-left: 10px;"> <p>REFERENCE MATERIAL PRODUCER                  CERT #2655.02</p> </div> </div>	

## Bruker Daltonik MALDI Biotyper Classification Results



### Meaning of Score Values

Range	Interpretation	Symbols	Color
2.00 – 3.00	High-confidence identification	(+++)	Green
1.70 – 1.99	Low-confidence identification	(+)	Yellow
0.00 – 1.69	No Organism Identification Possible	(-)	Red

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

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

Run Creation Date/Time: 2022-09-19T09:16:39.647 JAL

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

Sample Name	Sample ID	Organism (best match)	Score Value
A3 (+++) (A)	335-550	Escherichia coli	2.27

Comments:

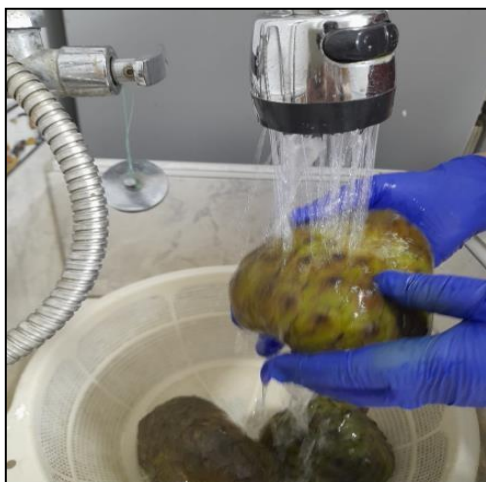
closely related to Shigella / Escherichia fergusonii and not definitely distinguishable at the moment



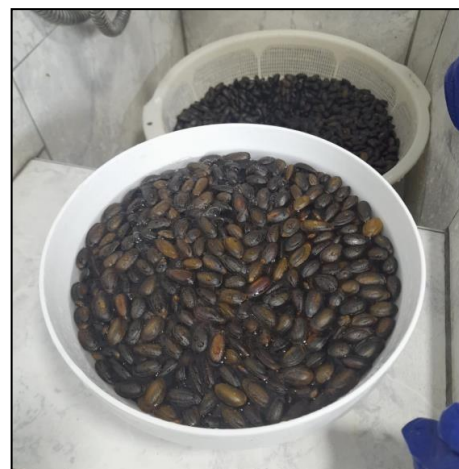
## ANEXO H. Evidencias fotográficas



**Figura 1. Muestra de tipo Semillas  
*Annona cherimola* (Chirimoya)**



**Figura 2. Lavado de la  
muestra**



**Figura 3. Lavado de  
semillas**



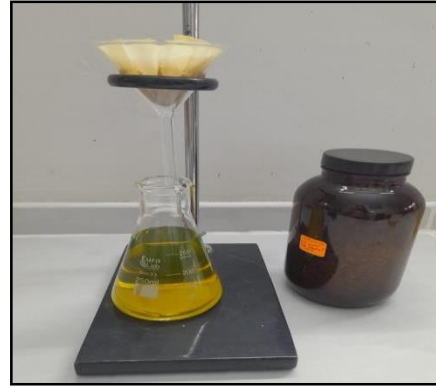
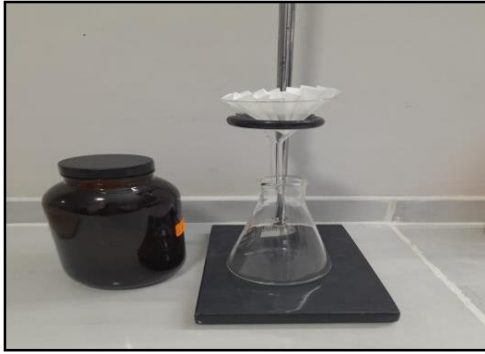
**Figura 4. Procedimiento de secado de la muestra**



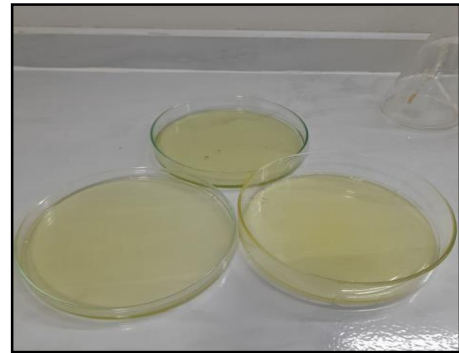
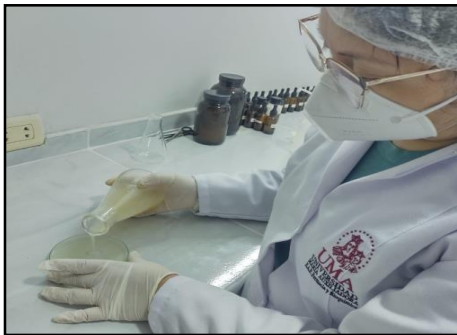
**Figura 5. Procedimiento de molienda de la muestra**



**Figura 6. Preparación del macerado del extracto etanólico**



**Figura 7. Procedimiento de filtración del macerado del extracto etanólico**



**Figura 8. Proceso de vertido en placas**

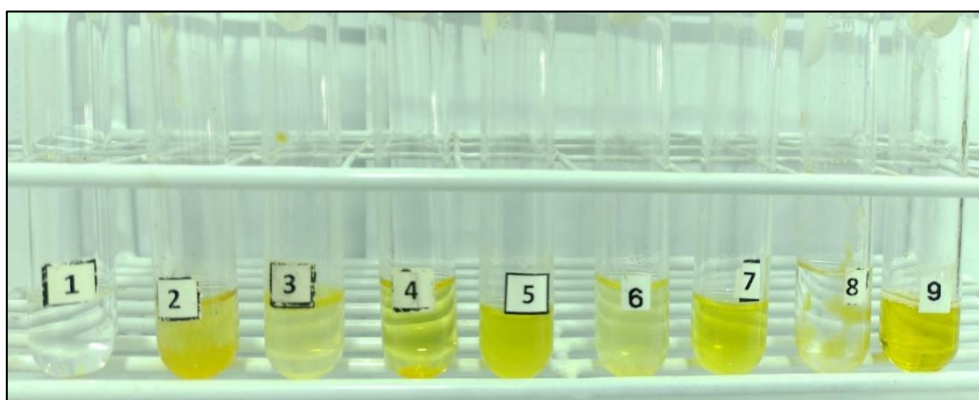


**Figura 9. Obtención de extracto seco**

## PRUEBA DE SOLUBILIDAD



**Figura 10. Añadiendo extracto seco al tubo de ensayo para prueba de solubilidad**



**Figura 11. Resultado de prueba de solubilidad**

## MARCHA FITOQUÍMICA



**Figura 12. Adición de extracto a los tubos de ensayo**



**Figura 13. Resultado de la marcha fitoquímica**



## ENSAYO MICROBIOLÓGICO



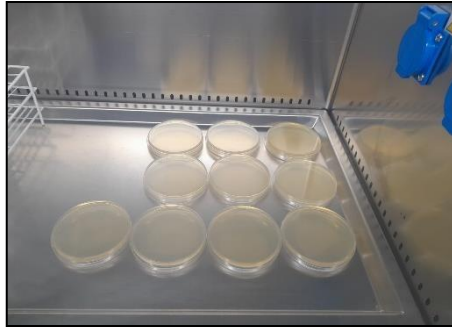
**Figura 14. Pesando del Agar**



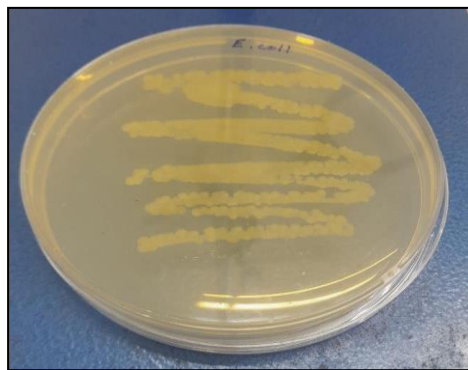
**Figura 15. Autoclave para el uso en la prueba microbiológica**



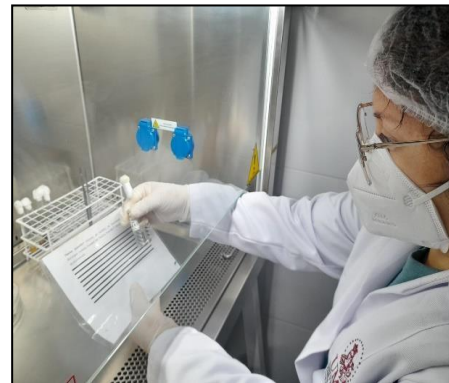
**Figura 16. Agar Mueller Hinton**



**Figura 17. Placas preparadas**



**Figura 18. Ceba biológica de tipo: *Escherichia coli* ATCC 25922**



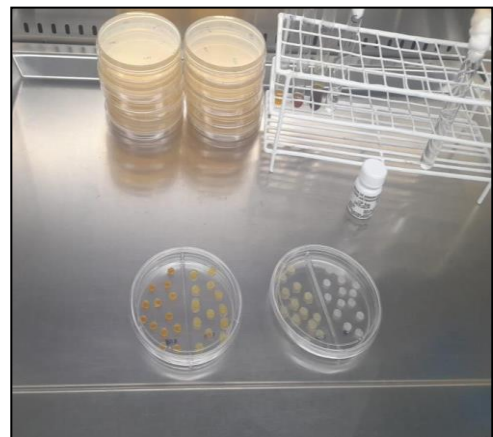
**Figura 19. Comparación de turbidez mediante el reactivo de Mc. Farland**



**Figura 20. Rotulado de placas**



**Figura 21. Sembrado de la cepa biológicas en las placas**



**Figura 22. Preparación de discos**

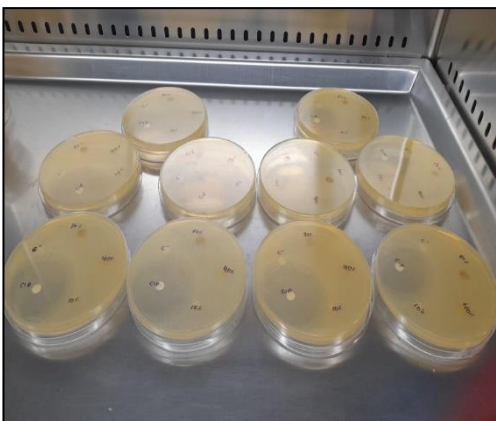




**Figura 23. Placas inoculadas con la cepa y con discos**



**Figura 24. Incubación de placas**



**Figura 25. Lectura de resultados**

## ANEXO I. Porcentaje de rendimiento

### Determinación del porcentaje de rendimiento

Tenemos la cantidad de producto obtenido en la extracción química.

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

**Dónde:** %E = porcentaje de rendimiento

Pf = peso final (extracto seco)

Pi = peso inicial (muestra molida)

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

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

### Extracción por maceración

$$\%E = \frac{10.75 \text{ g}}{500 \text{ g}} \times 100 = 2.15\%$$

Pf= 10.75 gr extracto seco obtenido

Pi = 500 gr. muestra molida

## ANEXO J. Constancia de recolección de la muestra

### CARTA DE AUTORIZACIÓN PARA LA RECOLECCIÓN DE LA MUESTRA

Yo, Marily Cisneros Dela Cruz con DNI: 42114378 en  
calidad de responsable del fundo salpin ubicado en el distrito de  
San Mateo de Ob provincia Huarochari y departamento de  
Lima.

Autorizo a los estudiantes de la **Universidad María Auxiliadora**, de la Escuela Profesional de FARMACIA Y BIOQUÍMICA, Bach. **SULCA NEIRA MARISELA LISSETH** y Bach. **PAUCARCAJA REYMUNDO KELLY GISEÑA**, con título de proyecto de investigación, "EFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE SEMILLAS DE *Annona cherimola* (Chirimoya) frente *Escherichia coli* ATCC 25922", para que puedan recolectar la muestra correspondiente.

San Mateo, 12 de setiembre del 2023



Firma