



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

**EFEECTO ANTIBACTERIANO *in Vitro* DEL JARABE CON  
EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LAS HOJAS DE  
*Passiflora ligularis* Juss. “Granadilla” FRENTE A LA CEPA  
DE *Staphylococcus aureus* ATCC 25923**

**TÉSIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE QUÍMICO  
FARMACÉUTICO**

**AUTORES:**

Bach. NOLASCO MAYLLE ALEJANDRO  
Bach. SÁNCHEZ CORONEL JOSÉ NELBER

**ASESOR:**

Mg. ORELLANA PERALTA, FIORELLA GUADALUPE

**LIMA – PERÚ**

**2020**

## **DEDICATORIA**

El presente trabajo lo dedico en especial a Dios, por ser el inspirador y darme esa fuerza para continuar con este proceso de obtener uno de los anhelos más deseados y a la vez a mi primo Marcelino Huacho Nolasco por motivarme siempre

**Alejandro Nolasco Maylle**

Agradezco a Dios, por darme las fuerzas necesarias para seguir con mis metas. En especial a mis padres, por el gran ejemplo de perseverancia y apoyo incondicional; a mi compañera de una y mil aventuras, por estar siempre a mi lado alentándome para lograr mis propósitos; a mi hijo el motivo de todo esfuerzo y mis hermanos por su apoyo incomparable.

**José Nelber Sánchez Coronel**

## **AGRADECIMIENTO**

A nuestro creador, que nos bendice cada día, fortalece nuestro espíritu e ilumina nuestro camino para lograr nuestros anhelos.

A las autoridades de nuestra Alma Mater, la Universidad María Auxiliadora, por el interés de brindarnos la mejor formación académica.

A todos nuestros maestros por compartir con nosotros sus conocimientos y experiencias profesionales.

A nuestra asesora MSc. Fiorella Orellana Peralta, por el apoyo desinteresado en la consolidación de nuestro trabajo de investigación.

Al Dr. Rubén Dario Sánchez la Rosa, por su apoyo incondicional en la adquisición de la bacteria y sus técnicas en el laboratorio.

A todos los que de una u otra manera contribuyeron en nuestro desarrollo personal y profesional.

## RESUMEN

Las bacterias desarrollan fácilmente resistencia a los antibacterianos; una causa podría ser por el uso incorrecto de medicamentos, resultando casos difíciles de resolver. La resistencia bacteriana es una problemática mundial de la salud, alarga tratamientos e incrementan costos que muchos pacientes no tienen capacidad de afrontar; esto genera la necesidad de utilizar plantas medicinales como fuente de compuestos importantes con diferentes propiedades entre ellos el efecto antibacteriano, y considerarlo como una alternativa terapéutica para reducir la resistencia bacteriana. **Objetivo:** Determinar el efecto antibacteriano *in vitro* del jarabe con extracto hidroalcohólico de hojas de *Passiflora ligularis* Juss. “Granadilla” frente a la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. **Metodología:** La sensibilidad *in vitro* de *Staphylococcus aureus* frente al extracto con potencial antibacteriano, fue evaluada mediante la técnica de difusión en agar de Kirby & Bauer, en concentraciones al 25, 50 y 75 % del extracto, con amoxicilina como control positivo y agua destilada estéril control negativo. La formulación del jarabe se realizó basada en la consistencia del producto con la concentración efectiva inhibitoria del extracto. Luego se evaluó el efecto antibacteriano comparando la inhibición bacteriana con los controles positivo y negativo. **Resultados:** Los resultados evidenciaron el efecto antibacteriano del jarabe con extracto de granadilla al 75%, frente a *Staphylococcus aureus*, presentando halos de inhibición promedio de 16,31 mm. Al evaluar los datos del efecto antibacteriano del jarabe y del control positivo (amoxicilina), mediante la prueba paramétrica Análisis de Varianza (ANOVA) de un factor, se encontró que existe diferencia significativa entre los tratamientos con un valor de  $p < 0,05$ . **Conclusión:** El jarabe con extracto hidroalcohólico de hojas de *Passiflora ligularis* Juss. “Granadilla” al 75%, tiene efecto antibacteriano frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

**Palabras clave:** *Passiflora ligularis*, *Staphylococcus aureus*, antibacteriano, halo de inhibición

## ABSTRACT

Bacteria easily develop resistance to antibacterials; one cause could be the incorrect use of medications, resulting in difficult to resolve cases. Bacterial resistance is a global health problem. Lengthen treatments and increase costs that many patients have no capacity to face with, this create the need to use medicinal plants as a source of important compounds with different properties including antibacterial effect and consider it as a therapeutic alternative to reduce bacterial resistance. **Objective :** Determine the antibacterial effect in vitro of syrup with hydroalcoholic extract of *Passiflora ligularis* Juss leaves " Granadilla" in front of the *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 strain. **Methodology:** The in vitro sensitivity of *Staphylococcus aureus* against the extract with antibacterial potential was evaluated using the Kirby & Bauer agar diffusion technique, in concentrations of 25, 50 and 75% of the extract, with amoxicillin as a positive control and distilled water. sterile negative control. The syrup formulation was made based on the consistency of the product with the effective inhibitory concentration of the extract. The antibacterial effect was then evaluated by comparing the bacterial inhibition with the positive and negative controls. **Results:** The results showed the antibacterial effect of the syrup with 75% passion fruit extract, against *S. aureus*, presenting an average inhibition halos of 16.31 mm. When evaluating the data of the antibacterial effect of the syrup and the positive control (amoxicillin), using the parametric test Analysis of Variance (ANOVA) of one factor, it was found that there is a significant difference between the treatments with a value of  $p < 0.05$ . **Conclusion:** The syrup with hydroalcoholic extract of leaves of *Passiflora ligularis* Juss "Granadilla" has antibacterial effect against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

**Keywords:** *Passiflora ligularis*, *Staphylococcus aureus*, antibacterial, halo inhibition.

## ÍNDICE

	Página
DEDICATORIA	i
AGRADECIMIENTO	ii
RESUMEN	iii
ABSTRACT	iv
INDICE	v
LISTA DE FIGURAS	vii
LISTA DE TABLAS	viii
INTRODUCCIÓN	1
<b>1. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN</b>	<b>2</b>
1.1 Planteamiento del problema	2
1.2 Formulación del problema	2
1.2.1 Problema General	2
1.2.2 Problemas Específicos	2
1.3 Objetivos	3
1.3.1 Objetivo General	3
1.3.2 Objetivo Específicos	3
1.3.3 Justificación	4
<b>2. MARCO TEÓRICO</b>	<b>5</b>
2.1 Antecedentes	5
2.1.1 Antecedentes Nacionales	5
2.1.2 Antecedentes Internacionales	11
2.2 Base teórica	15
2.2.1 Generalidades de la Familia Passifloraceae	15
2.2.2 Especie vegetal <i>Passiflora ligularis</i> Juss. “Granadilla”	18
2.2.3 Metabolitos secundarios de los vegetales	21
2.2.4 Descripción de la cepa Bacteriana empleada	24
2.3 Definición de términos básicos	27
2.4 Hipótesis	29
2.4.1 Hipótesis General	29

2.4.2 Hipótesis Específicas	29
<b>3. MATERIALES Y MÉTODOS</b>	<b>30</b>
3.1 Tipo de investigación	30
3.2 Nivel de investigación	30
3.3 Diseño de la investigación	30
3.4 Área de estudio	32
3.5 Población y muestra: Criterios de inclusión y exclusión	33
3.6 Variables y Operacionalización de variables	34
3.7 Instrumentos de recolección de datos	36
3.8 Validación de los instrumentos de recolección de datos	36
3.9 Procedimientos de recolección de datos	37
<b>4. RESULTADOS</b>	<b>51</b>
<b>5. DISCUSIÓN</b>	<b>63</b>
<b>6. CONCLUSIONES</b>	<b>66</b>
<b>7. RECOMENDACIONES</b>	<b>67</b>
<b>8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>68</b>
<b>9. ANEXOS</b>	<b>74</b>
9.1 Matriz de consistencia	

## LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Fruto de <i>Passiflora ligularis</i> Juss. “Granadilla”	19
Figura 2. Características macroscópicas de <i>Staphylococcus aureus</i>	25
Figura 3. Especie vegetal <i>Passiflora ligularis</i> Juss. “Granadilla”	37
Figura 4. Obtención del extracto de hojas de <i>Passiflora ligularis</i> Juss. “Granadilla”	39
Figura 5. Diagrama del estudio Fitoquímico preliminar	45
Figura 6. Solubilidad del extracto hidroalcohólico de hojas de <i>Passiflora ligularis</i> Juss. “Granadilla”	52
Figura 7. Diferencia del comportamiento de los tratamientos (concentración 25, 50 y 70% del extracto, control positivo y control negativo).	57
Figura 8. Representación del efecto de los tratamientos agua destilada estéril (negativo), Amoxicilina 250mg (positivo) y el extracto hidroalcohólico al 75%.	62



## LISTA DE TABLAS

	Página
Tabla 1. Valor nutritivo de los frutos de <i>Passiflora ligularis</i> Juss.	17
Tabla 2. Clasificación taxonómica de la granadilla de acuerdo a Antonie Laurent de Jussieu, 1865	20
Tabla 3. Ensayo de solubilidad del extracto hidroalcohólico de hojas de <i>Passiflora ligularis</i> Juss. “Granadilla”	51
Tabla 4. Ensayo Fotoquímico preliminar del extracto hidroalcohólico de hojas de <i>Passiflora ligularis</i> Juss. “Granadilla”	53
Tabla 5. Efecto antibacteriano <i>in Vitro</i> del jarabe con extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Passiflora ligularis</i> Juss. “Granadilla” frente a <i>Staphylococcus aureus</i>	54
Tabla 6. Análisis de inhibición de las concentraciones ensayadas del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Passiflora ligularis</i> Juss. “Granadilla” frente la cepa <i>Staphylococcus aureus</i>	55
Tabla 7. Análisis de varianza de inhibición bacteriana mm	56
Tabla 8. Análisis de promedios de sub conjuntos	57
Tabla 9. Halos de inhibición de <i>Staphylococcus aureus</i> frente al jarabe con extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>passiflora ligularis</i> Juss “granadilla” al 75%	58
Tabla 10. Efecto antibacteriano <i>in vitro</i> del jarabe con extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>passiflora ligularis</i> juss “granadilla” frente a <i>Staphylococcus aureus</i> .	59
Tabla 11. Análisis de varianza	60
Tabla 12. Comparaciones múltiples	61
Tabla 13. Análisis de sub conjuntos de homogeneidad de varianza	62

## INTRODUCCIÓN

Desde la antigüedad el hombre ha utilizado las plantas en el tratamiento de enfermedades gracias a las diversas propiedades que poseen. En la actualidad es creciente el estudio y desarrollo de técnicas analíticas que permiten determinar e identificar las sustancias contenidas en las especies vegetales, así como en la comprobación de los efectos atribuidos en la medicina popular.

El efecto antibacteriano de extractos vegetales utilizados en medicina popular contra diversos microorganismos, causantes de infecciones frecuentes en humanos, ha sido ampliamente estudiado. Debido a los efectos adversos de algunas de las drogas antibacterianas utilizadas actualmente, a la poca efectividad de algunos antibióticos, al elevado costo de tratamientos médicos y al aumento frecuente de la resistencia bacteriana, numerosos investigadores han encaminado sus trabajos hacia la búsqueda y aplicación de nuevos compuestos biológicamente activos que presenten mínimos efectos secundarios.

En nuestro país utilizar plantas medicinales para aliviar las dolencias, es una práctica popular que aún se conserva, los conocimientos sobre sus aplicaciones han sido transmitidos de padres a hijos.

Los pobladores del distrito de Pimpingos, provincia de Cutervo-Cajamarca, utilizan popularmente la especie vegetal conocida con el nombre de granadilla, para tratar todo tipo de infecciones. La formulación de un jarabe con el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Passiflora ligularis* Juss., podría resultar una alternativa de antibioticoterapia de origen natural.

El presente trabajo de investigación propuso la utilización del extracto de las hojas de *Passiflora ligularis* Juss. “Granadilla” en la formulación de un jarabe, como alternativa terapéutica.

# 1. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

## 1.1 Planteamiento del problema

El incremento de infecciones causadas por bacterias, cada día es más elevado, probablemente debido al incremento de pacientes inmunosuprimidos por diferentes causas y que requieren la administración de fármacos oncológicos, antibacterianos de amplio espectro, alimentación parenteral, fármacos a pacientes receptores de órganos transplantados y antirretrovirales a pacientes seropositivos (VIH).<sup>26</sup>

La industria farmacéutica se dedica a la investigación y desarrollo de nuevos medicamentos antibacterianos, sin embargo, los efectos adversos de algunos antibióticos, su deficiente efectividad, considerable toxicidad y la resistencia bacteriana que ocasionan, sumado a los elevados precios del tratamiento, orientan a los investigadores a buscar principios farmacológicamente activos con inapreciables efectos secundarios.

## 1.2 Formulación del problema

### 1.2.1 Problema General

¿El jarabe con el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Passiflora ligularis* Juss? “Granadilla” tendrá efecto antibacteriano *in vitro* frente a la cepa *Staphylococcus aureus* ATCC 25923?

### 1.2.2 Problemas Específicos

- ¿Cuáles son los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de *Passiflora ligularis* Juss “Granadilla”?
- ¿Tendrá efecto antibacteriano el jarabe elaborado a base del extracto hidroalcohólico de las hojas *passiflora ligularis* Juss “Granadilla” frente a la cepa *Staphylococcus aureus* ATCC 25923?
- ¿Cuál será la concentración mínima inhibitoria del extracto hidroalcohólico de *Passiflora ligularis* Juss “Granadilla” frente a la cepa *Staphylococcus aureus* ATCC 25923?

### **1.3 Objetivos**

#### **1.3.1 Objetivo General**

Determinar el efecto antibacteriano *in vitro* del jarabe con extracto hidroalcohólico de las hojas de *Passiflora ligularis* Juss. “Granadilla” frente a la cepa *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

#### **1.3.2 Objetivos Específicos**

- Especificar cualitativamente los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Passiflora ligularis* Juss. “Granadilla”, mediante reactivos de coloración y/o precipitación.
- Evaluar el efecto antibacteriano *in vitro* del jarabe formulado con la concentración efectiva inhibitoria del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Passiflora ligularis* Juss. “Granadilla” frente a la cepa *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.
- Especificar la concentración efectiva inhibitoria *in vitro* del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Passiflora ligularis* Juss. “Granadilla” de las concentraciones 25%, 50% y 75% frente a la cepa *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

#### 1.4 Justificación

No es para nadie un secreto que existen muchas plantas medicinales utilizadas en infusiones, cocimientos y emplastos que aún son usadas en la medicina popular para tratar inflamaciones, infecciones, malestares estomacales, renales y otras dolencias. Para la mayoría de países como en el Perú, la “Organización Mundial de la Salud (OMS) está promoviendo el uso de la medicina vegetal natural de manera organizada y científica en todas las regiones del mundo”<sup>26</sup>; al determinar el efecto antimicrobiano del jarabe con extracto de granadilla, contribuimos brindando una alternativa farmacéutica de origen natural que no requiere contar con alta tecnología, de fácil administración, accesible y de bajo costo que beneficia a la población.

Al incorporar el extracto de hojas de *Passiflora ligularis* Juss. “Granadilla” en una formulación líquida (jarabe) y demostrar su efecto antibacteriano *in vitro* frente a la cepa *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, se pretende apoyar investigaciones de ciencias de la Salud y contribuir con la comunidad, con un fármaco de origen natural, que permita sustituir medicamentos sintéticos para satisfacer las necesidades terapéuticas a un precio accesible a los escasos recursos de la mayor parte de la población peruana.

## 2. MARCO TEÓRICO

### 2.1 Antecedentes

Las propiedades terapéuticas de las plantas se deben al contenido de sustancias químicas presentes en ellas, una o más de estas sustancias o principios activos son las responsables del efecto fisiológico. Algunas de las sustancias químicas de estructura compleja han sido estudiadas, aisladas, purificadas y hasta han sido modelo para sintetizarlas, pero aún queda mucho por investigar en este campo.

Investigaciones científicas realizadas en especies vegetales demuestran propiedades terapéuticas, entre las que destacan propiedades antibacterianas, antiinflamatorias, antioxidantes, antidiabéticas, etc.

Son muy pocos los estudios o publicaciones nacionales o internacionales, que demuestren la actividad terapéutica atribuida popularmente a plantas medicinales de la familia passifloráceas.

El uso popular de extractos de las hojas de la especie *Passiflora ligularis* Juss “granadilla”, en la prevención y tratamiento de enfermedades sobre todo las causadas por microorganismos, sigue vigente en la actualidad.

#### 2.1.1 Antecedentes Nacionales

En el estudio actividad antibacteriana de plantas medicinales del norte del Perú, realizado por un equipo conformado por investigadores peruanos y norteamericanos, dirigido por Bussmann (2008)<sup>6</sup>, analizaron propiedad antibacteriana de 171 especies vegetales, en condiciones de un laboratorio privado de la ciudad de Trujillo-Perú. Tuvieron como propósito comprobar científicamente la efectividad antibacteriana de los extractos vegetales utilizados popularmente en infecciones causadas por *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. Utilizaron el método de difusión con disco en

agar, prepararon extractos acuosos con 14 especies y extractos alcohólicos con 78 especies. Ensayaron la actividad de cada extracto; reportando que algunas de las plantas utilizadas como antibacterianas no manifestaron ninguna actividad, mientras que las usadas con otros fines, demostraron efecto importante. Concluyeron considerar que en muchos tratamientos con extractos de plantas utilizan más de una especie, uniendo sus compuestos, complementándose entre sí, por lo que las pruebas biológicas necesitan ser ampliadas para afirmar tales preparaciones.

Ruiz J. y Roque M. (2009)<sup>34</sup>, determinaron la actividad antimicrobiana de plantas del Nor-Oriente Peruano. Las plantas *Cassia reticulata*, *Ilex guayusa* Loes; y *Piper lineatum*, fueron recolectadas en Cajamarca y *Terminalia catappa*, fue recolectada en Amazonas. Los extractos fueron obtenidos por maceración con etanol al 95%, metanol y solución hidroalcohólica. En este experimento se trabajó con las “cepas bacterianas *Staphylococcus aureus* y *epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis* y *Escherichia coli*; y la cepa fúngica *Candida albicans*, *Aspergillus niger* y *Microsporium canis*”<sup>34</sup>. Utilizaron el método por difusión en agar Müller Hinton para las cepas bacterianas, dextrosa Sabouraud para las cepas fúngicas y agar selectivo para *Microsporium canis*. En los resultados reportaron que el extracto hidroalcohólico de *C. reticulata*, los extractos etanólico, metanólico e hidroalcohólico de *P. lineatum* y el extracto hidroalcohólico de *T. catappa*, son los que presentan actividad antibacteriana, siendo las más susceptibles las cepas *Candida albicans* (83%), *Staphylococcus aureus* (67%) y *Microsporium canis* (50%). El extracto etanólico de *Piper lineatum* y el hidroalcohólico de *Terminalia catappa*, mostraron halos de inhibición  $\geq 50$  mm, respectivamente frente a *Microsporium canis*. Con los resultados del estudio fitoquímico determinaron la presencia de compuestos fenólicos y alcaloides.

Mayta F. (2010)<sup>24</sup>, evaluaron el efecto antibacteriano del extracto etanólico de propóleo de Oxapampa-Perú frente a las cepas *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) y *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923). En el estudio utilizó soluciones de Propóleo al 10% y 30%, comparando los resultados con controles positivos (clorhexidina al 0,05%; 0,12%, y Listerine®) y con el control negativo (agua destilada), utilizando el método de Kirby-Bauer. Analizaron sus datos utilizando la prueba estadística t de student. Los resultados revelaron que para el *Staphylococcus aureus*, el extracto etanólico de propóleo al 30% manifestó mayor eficacia con una media de 11,77mm  $\pm$  0,19, además apreciaron que concentraciones de propóleo ensayadas a las 24 y 48 horas mostraron  $p=0,007$ . Para *Streptococcus mutans*, demostraron que tanto el extracto de propóleo al 10% y 30% a las 24 y 48 horas no manifestaron diferencia significativa. Concluyeron que el extracto de propóleo al 30% tuvo mejor efecto antibacteriano que el Listerine® contra el *Streptococcus mutans*  $p<0,001$  e iguala en efectividad la clorhexidina 0,05% frente al *S. aureus*.

Castillo (2013)<sup>14</sup>, evaluó el efecto inhibitorio de *Myrciaria dubia* “camu camu”. Preparó un extracto etanólico de la cáscara, en concentraciones al 25%, 50%, 75% y 100%. El efecto fue evaluado mediante la técnica de Kirby Bauer, determinaron la concentración mínima inhibitoria, del extracto, frente a los microorganismos *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans*. De los resultados determina que existe diferencia significativa del efecto antimicrobiano entre las diferentes concentraciones ensayadas. Finalmente reportaron que *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans*, son sensibles a todas las concentraciones del extracto de *Myrciaria dubia* “camu camu”, con una Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del 75% para *Staphylococcus aureus* y al 100% para *Candida albicans*. Concluyen que *Myrciaria dubia* “camu camu” tiene efecto inhibitorio in vitro contra *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans*.



Torres J. (2014)<sup>39</sup>, en la evaluación de la actividad antimicrobiana de extractos de *Luma chequen* (molina) A. Gray “arrayán” frente a patógenos aislados de hemocultivos, obtiene extractos con solventes de diferente polaridad entre hexano, diclorometano, etanol y agua, para determinar la actividad de los extractos por el método modificado de difusión en pocillos. Reporta que el extracto etanólico mostró mayor actividad antimicrobiana en las cepas evaluadas y resultados muy notorios del extracto etanólico a la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI), enfrentado a *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* y *Klebsiella pneumoniae*. Del estudio fitoquímico destaca que los extractos muestran compuestos fenólicos, taninos, flavonoides, triterpenos y/o esteroides, alcaloides y leucoantocianidinas. Finalmente concluye que *Luma chequen* “arrayán” manifiesta amplio espectro de acción antimicrobiana.

Abadie R. et al (2014)<sup>1</sup>, determinaron la actividad antibacteriana de extractos de *Alchornea triplinervia*, *Annona muricata*, *Averrhoa carambola*, *Brunfelsia grandiflora*, *Caraipa grandifolia* y *Cedrela amorata*. Utilizaron el método de difusión en disco para determinar la concentración inhibitoria mínima (CIM) de los extractos con actividad antibacteriana; y el método de macrodilución en caldo para determinar la concentración bactericida mínima (CBM). Del estudio revelaron que no encontraron actividad frente a la cepa *E. coli* en ninguno de los extractos. Reportan que los extractos de *C. amorata* y *A. triplinervia*, mostraron considerable efecto frente a *P. aeruginosa*, concentración mínima inhibitoria (CIM) = 15.62 y 62.5 mg/ml, respectivamente. Los extractos estudiados manifestaron actividad frente a *S. aureus*, los extractos de *C. amorata*, *A. triplinervia* y *Caraipa grandiflora*, mostraron una CIM = 3.91 mg/ml para cada uno. Manifiestan que lograron promisorios resultados de los extractos estudiados frente a cepas intrahospitalarias, especialmente frente a *S. aureus*.

Ríos y Dávila (2014)<sup>31</sup>, demostraron la actividad antibacteriana de *Geranium ayavacense* sobre *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis* y *Staphylococcus aureus*. Para el estudio in vitro, obtuvieron un extracto acuoso de la planta entera y lo enfrentaron a cepas de *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis* y *Staphylococcus aureus*; hallando un halo de inhibición de 19 mm, sobre el crecimiento de *Staphylococcus aureus*; las otras cepas estudiadas manifestaron algo de sensibilidad. En la evaluación de la concentración mínima inhibitoria CMI, *Staphylococcus aureus* mostró (8.00mg/ml), el menor valor respecto a *E. coli* y *E. faecalis*.

Churampi L. y Montes E (2015)<sup>16</sup>, evaluaron actividad antiinflamatoria del extracto etanólico del fruto de *Passiflora mollissima* (Kunth) L.H. Bailey “Tumbo Serrano” y su uso en industria cosmética. Investigaron y reportaron compuestos polifenólicos especialmente flavonoides; sustancias con potencial efecto antioxidante, antimicrobiano, etc.; demostraron actividad antiinflamatoria utilizando el método de edema auricular en ratones y evaluaron *in vitro* el perfil de seguridad como activo biológico en industria cosmética con el método Irritection Assay System (IAS). Concluyen que el extracto etanólico de *Passiflora mollissima* (Kunth) L.H.Bailey tiene actividad antiinflamatoria y es seguro como activo biológico en cosmética.

Soto (2015)<sup>38</sup>, determinó efecto antimicrobiano de un gel con extracto etanólico de las hojas de *Senecio rizhomatus* Rusby “Llancahuasha”; del extracto etanólico informa presencia de metabolitos secundarios importantes como alcaloides, flavonoides y saponinas. El gel elaborado con 25mg/ml del extracto, fue evaluado por el método de difusión en agar, enfrentándolo a dos cepas de *Staphylococcus aureus*: de aislamiento clínico hospitalario y de la comunidad, manifestando que la zona de inhibición de la cepa hospitalaria fue de 18mm y la cepa de la comunidad de 20mm; con los resultados obtenidos concluyen que el gel con el extracto obtenido tiene capacidad antibacteriana in vitro.

García (2017)<sup>17</sup>, estudió la actividad antioxidante in vitro de *Passiflora tripartita* var. Mollissima “puro puro” procedente de los distritos de Usquil, Charat y Huaranchal. Utilizó el método DPPH. Los resultados demostraron que las tres muestras ensayadas presentan actividad antioxidante. Al comparar los resultados obtenidos se encuentra diferencia estadísticamente significativa, en los porcentajes de actividad antioxidante. Concluye que presentó mayor porcentaje la especie procedente del distrito de Usquil, seguida del distrito de Charat.

Calderón (2017)<sup>9</sup>, comparó el “efecto antimicrobiano y citotóxico del extracto etanólico del fruto de la *Pasiflora mollissima* (Tumbo) sobre las cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC25175), *Streptococcus oralis* (ATCC6249), *Streptococcus sanguinis* (ATCC 10556) y *Candida albicans* (ATCC 10231)”<sup>9</sup>. Demostró mayor actividad antibacteriana del extracto al 100% sobre *Streptococcus sanguinis* con una media de  $17.4 \pm 0.4$  mm. Explicó que grupos de la familia de *Streptococcus* presentaron diferencia significativa con un  $p = 0.000$ . El ensayo de citotoxicidad mostró actividad citotóxica alta en su segundo control a las 26 horas, con una letalidad total de 100% sobre los óvulos fecundados de erizos de mar (*Tetrapygyus niger*) en tres concentraciones. Concluye que el extracto manifestó actividad antibacteriana en las cepas bacterianas estudiadas y ausencia de actividad antifúngica sobre *Candida albicans*.

Rodríguez (2018)<sup>32</sup>, en el estudio evaluación del efecto antimicrobiano del extracto etanólico de la corteza del *Ficus citrifolia* Mill. Frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, empleó el método de difusión en agar de Kirby-Bauer, en placa con agar Mueller-Hinton, sembradas con cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Formaron 3 grupos de evaluación: Dimetilsulfóxido 2.5% (v/v), Tetraciclina 30  $\mu\text{g}$  y extracto etanólico del *Ficus citrifolia* Mill. En concentración de 100 mg/mL (control negativo, control positivo y extracto respectivamente). El

ensayo fitoquímico muestra que posee los siguientes metabolitos secundarios: Flavonoides, alcaloides, taninos, taninos condensados, triterpenos, lactonas  $\alpha$ - $\beta$  insaturadas, dobles enlaces y compuestos oxidables. Manifiesta que el ensayo presentó el efecto antimicrobiano del extracto con un porcentaje de inhibición de 47.96% en comparación con la Tetraciclina, habiendo diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) entre el extracto y el control positivo usado. El estudio realizado concluye que la variedad de metabolitos secundarios evidenciados, fueron responsables del efecto antimicrobiano de la corteza del *Ficus citrifolia* Mill.

### **2.1.2 Antecedentes Internacionales.**

Investigadores de diferentes partes del mundo han realizado estudios para comprobar el efecto antibacteriano de las plantas medicinales.

Lizcano A. y Vergara J. (2008)<sup>22</sup>, determinaron el “efecto antimicrobiano de extractos etanólicos vegetales obtenidos a partir de *Valeriana pilosa*, *Hesperomeles ferruginea*, *Myrcianthes rhopaloides* y *Passiflora manicata* frente a microorganismos patógenos”<sup>22</sup> *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* en Colombia. Midieron la sensibilidad *in vitro* de los microorganismos, mediante la técnica de difusión de Kirby- Bauer. En el análisis de los resultados de los diferentes ensayos observaron que el extracto de *Passiflora manicata* presentó mayor actividad frente a *Escherichia coli*, *Candida albicans*, y *Bacillus subtilis*, motivándolos a fraccionar el extracto crudo con diclorometano, agua y alcohol isoamílico como solventes. Al encontrar que la fase acuosa tiene mayor efecto inhibitorio frente a todos los microorganismos ensayados, logran identificar que el extracto acuoso contiene el principio activo con potencial antimicrobiano.

Pallo A. (2012)<sup>27</sup>, evaluaron el efecto ansiolítico del extracto hidroalcohólico de flor de granadilla *Passiflora ligularis* en ratones *Mus musculus*, en Ecuador. Comprobaron el efecto por medio de estudios pre-clínicos en ratones utilizando el test de actividad exploratoria (laberinto), test de Curiosidad, test de Incapacitación Motriz (Chimenea) y el test de Actividad Miorrelajante (Rota-Rod), en los cuales se demuestra que el tratamiento de extracto hidroalcohólico al 100% tiene la misma acción ansiolítica que el de *Passiflora edulis* y Diazepam. En conclusión, los tratamientos al 40% y 70% presentaron actividad ansiolítica en menor grado.

Saravanan S. y Parimelazhagan T. (2014)<sup>36</sup>, en Colombia, estudiaron las propiedades antioxidantes, antimicrobianas y antidiabéticas in vitro de los polifenoles del fruto de *Passiflora ligularis* Juss. Para el estudio de las propiedades antioxidantes emplearon el método del radical libre DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo), el método ABTS (ácido 2,2- azinobis-3-etil benzotiazolina-6-sulfónico) y el método de FRAP (poder antioxidante reductor férrico). La propiedad antidiabética se estudió por los métodos de inhibición de las enzimas  $\alpha$ -glucosidasa y  $\alpha$ -amilasa. La actividad antimicrobiana la evaluaron por la técnica de difusión en disco. Los resultados demostraron que el extracto acetónico de las frutas poseía eficacia en la captación de radicales libres, poder antioxidante reductor férrico. El extracto de acetona también mostró actividad inhibitoria significativa ( $P < 0,005$ ) en enzimas  $\alpha$ -amilasa (82.56%) y  $\alpha$ -glucosidasa (75.36%). Mostraron actividad antibacteriana contra las bacterias Gram (+) y Gram (-) e inhibieron el crecimiento de las cepas fúngicas *Candida albicans* (14.85 mm) y *Aspergillus niger* (13.91 mm). Al cuantificar polifenoles por HPLC manifestó presencia de ácido elágico, ácido gálico y rutina. Concluyen que el fruto de *P. ligularis* puede ser un agente con potencial antioxidante y antimicrobiano, útil en las industrias alimentarias y farmacéuticas.

Cabrera (2014)<sup>8</sup>, determinó la actividad antioxidante y antimicrobiana en extractos acuosos e hidroalcohólicos de *Passiflora ligularis*, en Colombia. La especie fue sometida a extracción con el método por reflujo, utilizando como solventes el agua y el etanol al 35% y 70%. La actividad antioxidante fue evaluada por los métodos de captación del radical libre DPPH, y el poder reductor férrico FRAP. La actividad antimicrobiana la determinaron por difusión en disco en agar Muller Hinton, frente a las cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Los resultados muestran presencia de compuestos fenólicos en los extractos acuosos e hidroalcohólicos de hojas y flores de *Passiflora ligularis* y manifestaron capacidad antioxidante en los dos métodos utilizados. En el ensayo de actividad antimicrobiana, los extractos acuosos e hidroalcohólicos de *Passiflora ligularis* demostraron que son activos frente a las cepas microbianas utilizadas, resaltando que los extractos acuosos tienen mayor capacidad para inhibir el crecimiento de los microorganismos ensayados que los extractos hidroalcohólicos.

Negrete M. (2015)<sup>25</sup>, realizó el estudio in vitro de la capacidad antibacteriana de la hoja de coca (*Erythroxylum coca* Lam) frente a las cepas *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, en Bolivia. Utilizaron hojas frescas y secas de *Erythroxylum coca* Lam procedente de Cochabamba y La Paz. Los extractos fueron obtenidos con solución fisiológica, alcohol absoluto y cloroformo. Los resultados demostraron inhibición de *Staphylococcus aureus*, y ninguna actividad al enfrentar los extractos con las cepas *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*. Manifiestan que sus resultados corroboran la acción en bacterias gram positivas de la hoja de coca (*Erythroxylum coca* Lam) en solución alcohólica de otras investigaciones.

Pinduisaca (2016)<sup>30</sup>, en la evaluación fitoquímica y evaluación de la actividad antioxidante in vitro de hojas y flores de *Passiflora ligularis*, en Ecuador; realizaron el tamizaje fitoquímico de los extractos, cromatografía de capa fina (TLC), cuantificación de fenoles y flavonoides mediante espectrofotometría UV, cuantificaron flavonoides mediante cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC) y actividad captadora de radicales libres mediante el método de 1,1-difenil-2-picril-hidrazilo (DPPH). El extracto etanólico al 70% presentó mayor concentración de fenoles y flavonoides. En flavonoides obtuvo 54.33 mg de quercetina/g de hojas secas y 12.53 mg de quercetina/g flores secas. Los resultados obtenidos por HPLC de apigenina fue de 0.0246% en hojas, 0.0538% en flores, para quercetina fue de 0.0730% en hojas y 0,0575% en las flores y para luteolina fue de 0.0026% en las hojas y 0.0114% en las flores. La capacidad inhibitoria IC50 del extracto metanólico al 99.8% fue de 310.0 ug/mL en hojas y 4692.6 ug/mL en flores. Concluye que existe mayor actividad captadora de radicales libres en hojas que en flores, además recomienda utilizar diferentes concentraciones de DPPH para la obtención de mejores resultados en la actividad captadora de radicales libres.

Arnhold S. (2017)<sup>3</sup>, evaluó la actividad antifúngica del extracto hidroetanólico de hojas de *Passiflora edulis* Sims, en Argentina. El autor comenta que popularmente son muy acreditadas sus propiedades hipotensora, sedante, relajante muscular, diurético, menos conocidas son las propiedades antimicrobianas de la especie vegetal; menciona que diferentes investigadores han informado actividad antifúngica de péptidos purificados y extractos hidroalcohólicos de *P. edulis*, versus *Candida albicans* y *Aspergillus fumigatus*, entre otros mohos. El extracto hidroetanólico de las hojas de *P. edulis* fue obtenido por maceración con el etanol de 50°. Determinó la actividad antifúngica de sensibilidad por difusión en disco y en pocillos. Reportan casi nula actividad antifúngica del extracto en condiciones de ensayo. La difusión en pocillo, en concentración de 250 µg y 125 µg del extracto manifestaron una leve

inhibición frente a la cepa *Aspergillus niger* y la concentración de 500 µg el mismo efecto inhibitorio leve frente a la cepa *Penicillium citrinum*. En la difusión en disco no se observó inhibición. Al no concordar la información recolectada del efecto antifúngico de *P. edulis* y los resultados del estudio realizado, señalan importante investigar en otros órganos de la planta, preparar extractos hidroalcohólicos con diferentes grados alcohólicos, evaluar otras concentraciones del extracto, realizar screening fitoquímico para identificar compuestos responsables de la actividad antifúngica. Resaltan la importancia de encontrar nuevas moléculas antifúngicas inocuas para el hombre y el medio ambiente.

## 2.2 Base teórica

### 2.2.1 Generalidades de la Familia Passifloraceae

Geográficamente la distribución de la familia Passifloraceae es casi exclusivamente tropical y subtropical. Las especies en su mayoría se encuentran en África y Madagascar, tan solo 4 de sus 22 géneros se encuentran en América. El género *Passiflora*, es prácticamente endémico del nuevo mundo, por ser el más numeroso de la familia con unas 450 especies, la mayoría originaria de América tropical. De esta amplia variabilidad genética, aquellas que producen frutos comestibles son las que presentan importancia económica a nivel mundial.

El género *Passiflora*, se clasifica en 22 subgéneros, según su morfología floral<sup>28</sup>. “Mientras todas las especies son más o menos importantes en la floricultura por las formas exóticas de flores y hojas, solo dos subgéneros son importantes por el cultivo de sus frutos: el subgénero *Tacsonia* a las que pertenecen las curubas y el subgénero *Passiflora* a las que pertenecen las granadillas”<sup>28</sup>. *Tacsonia* y *Passiflora* son subgéneros n=9, lo que, ofrece una posibilidad de mejora a través de la hibridación.



A diferencia de las especies de “Tacsonia, las 136 especies del subgénero *Passiflora* se distribuyen a través de América Latina, con pocas especies al sur de los Estados Unidos, y desde el nivel del mar hasta alturas de más de 2500 m”<sup>29</sup>. La incompatibilidad genética del género *Passiflora* al no ser muy fuerte facilita la formación de híbridos, aún entre especies no afines.<sup>29</sup>

La especie *Passiflora ligularis* tiene una polinización cruzada, debido a ello la variabilidad genética es muy elevada y difícil de precisar las variedades cultivadas.

De acuerdo con los marcadores quimiotaxonómicos la *Passiflora ligularis* produce metabolitos secundarios; entre ellos glicósidos cianogénicos en asociación con un sistema de anillo ciclopentenoide, flavonoides, de igual manera acumulan alcaloides del grupo indólicos como la harmina.<sup>24</sup>

De acuerdo a las características nutricionales el consumo de los frutos de las *Passifloras*, por cada 100g proporciona un porcentaje de macronutrientes con bajo aporte calórico, micronutrientes como calcio, fósforo y hierro, se le puede considerar además como una importante fuente de vitaminas, como se muestra en la tabla 1. Valor nutritivo de impacto en la salud humana.

**Tabla 1. Valor nutritivo de los frutos de *Passiflora*, pulpa y jugo con semillas.**

<b>CONTENIDO</b>	<b><i>P. mollisima</i></b>	<b><i>P. ligularis</i></b>
Calorías	25	46
Agua (g)	92,0	86,0
Proteínas (g)	0,6	1,1
Grasa (g)	0,1	0,1
Carbohidratos (g)	63	11,6
Fibra (g)	0,3	0,3
Cenizas (g)	0,7	0,9
Calcio (mg)	4	7
Fósforo (mg)	20	30
Hierro (mg)	0,4	0,8
Vitamina A (U.I.)	1700	0,0
Riboflavina (mg)	0,03	0,10
Niacina (mg)	2,5	2,1
Ácido Ascórbico (mg)	70,0	20,0

Fuente: Pacheco (2005)<sup>28</sup>

### 2.2.2 Especie vegetal *Passiflora ligularis* Juss. “Granadilla”

La Granadilla (*Passiflora ligularis* Juss.) es una de las principales especies del género *Passiflora*, que en su mayoría son lianas, enredaderas herbáceas con zarcillos axilares.

Presentan hojas alternas y nectarios extraflorales sobre la lámina o superficie adaxial del peciolo; las flores presentan el ovario unilocular con 3 placentas parietales; las semillas con testa reticulada o con estriaciones transversales y arilo anaranjado amarillento en la corona se presenta bandas de color moradas y blancas alternadas.<sup>4</sup>

#### - Origen

La especie es originaria de la región de los Andes de Perú hasta Colombia, y actualmente está distribuida desde Argentina hasta México, en altitudes entre 1,400 y 2,200 m.s.n.m., también se produce en Kenia, Costa de Marfil, Sur de África y Australia. “Por su origen tropical, es común encontrarla creciendo de forma silvestre en la región comprendida entre Argentina y México”<sup>2</sup>

La planta es trepadora originaria de las montañas de los Andes entre Bolivia, Perú y Ecuador.

Sus principales cultivos los encuentran del norte de Argentina hasta México, además se puede ubicar en zonas tropicales de África y Australia.

#### - Características botánicas

Sus raíces son fibrosas, fasciculadas y poco profundas, tiene raíz primaria, a través de esta nacen un gran número de raíces secundarias. Posee un tallo cilíndrico, estriado y voluble, sirve como sostén y para almacenar agua.

El tallo y las ramas se caracterizan por presentar nudos entre 12 a 15 cm y en cada uno se encuentran: una hoja; dos brácteas o estipulas; dos yemas florales; y un zarcillo que facilita a la planta trepar y enredarse.

Las hojas son de gran tamaño de color verde intenso, en su borde presenta un aspecto liso y nervaduras bien pronunciadas en el envés.

Sus flores, con sépalos y pétalos de color blanco ligeramente amarillento, en la corona se encuentran ciertas bandas las cuales poseen coloraciones moradas y blancas alternadas. Las flores empiezan a dar fruto entre 1 y 3 años<sup>2</sup>.

El fruto es una baya casi esférica u ovoide entre 5 y 8 cm, con una cáscara dura, lisa y cerosa, inmaduro es de color verde y toma una coloración amarillo intenso cuando está maduro, generalmente con puntos blanquecinos que varían en número y tamaño (Figura 1), su peso varía entre 100 y 180 g.; el interior esponjoso de color blanco presenta en su interior un promedio de 200 – 250 semillas recubiertas por un arilo de color grisáceo translúcido, mucilaginoso y acidulado que constituye la parte comestible<sup>2</sup>.



**Figura 1. Fruto de Granadilla. *Passiflora. ligularis* Juss. Oriunda de América del Sur.**

Fuente: Arias J. (2014)<sup>2</sup>

### - Taxonomía

La clasificación taxonómica de granadilla del género *Passiflora* L. fue realizada por Antoine-Laurent de Jussieu (Juss), durante la Real Expedición Botánica del Nuevo Reino de Granada en 1865 (tabla2). “El nombre de la especie (*P. ligularis*) se debe a las glándulas pecioladas muy alargadas y liguliformes, llamadas lígulas que recubren la base de la hoja”<sup>2</sup>

**Tabla 2. Sistematización taxonómica de la granadilla de acuerdo a A. L. de Juss - 1865**

Orden	Violales
Familia	Passifloraceae
Tribu	Passiflorae
Género	<i>Passiflora</i>
Subgénero	<i>Passiflora</i>
Serie	<i>Tiliaefoliae</i>
Especie	<i>P. ligularis</i>
Nombre científico	<i>Passiflora ligularis</i> Juss, 1865

Fuente: Arias J. (2014)<sup>2</sup>

### **-Principios activos**

Las hojas y flores presentan trazas de “ alcaloides indolicos (harmano, harmina y harmol), derivados de apirona (maltol y etilmaltol), derivados flavónicos (quercetina, kaepherol, apigenina, luteololina), c-flavonoides (crisina, vitexina, isovitexina, orientina, flavononas), cumarinas, ácidos fenólicos y trazas de aceite esencial”<sup>29</sup>

### **- Propiedades terapéuticas**

Dentro de las principales propiedades terapéuticas de *P. ligularis* se encuentra su función como sedante, también posee propiedades relajantes y calmantes. Esta especie es muy utilizada para la ansiedad, el insomnio, migraña, fatiga, taquicardia y vértigo. Además se utiliza como antiespasmódico ya que reduce los dolores ocasionados por cólicos intestinales<sup>29</sup>.

*Passiflora* ha sido utilizada de forma popular e históricamente, para curar las heridas mediante la aplicación de cataplasmas (tratamiento tópico).

### **2.2.3 Metabolitos secundarios de los vegetales**

Las rutas metabólicas primarias constituyen el origen del metabolismo secundario de las plantas, dando origen a una variedad de compuestos. Algunos son responsables de olores y colores de los vegetales, otros son responsables de virtudes culinarias, medicinales o venenosas. Los metabolitos secundarios se acumulan en las células vegetales o pueden ser expulsados fuera de éstas<sup>5-21</sup>.

Los productos del metabolismo secundarios más importantes son:

#### **Terpenos**

Los elementos estructurales básicos de los terpenos se conocen como unidades de isopreno, porque los terpenos pueden descomponerse a elevadas temperaturas dando isopreno<sup>5</sup>

### **Aceites esenciales**

Los aceites esenciales son sustancias químicas volátiles de naturaleza compleja, con frecuencia están asociadas a gomas y a resinas. Estas esencias se encuentran exclusivamente en vegetales superiores. Muchos aceites esenciales son de “origen terpenoide, solo un pequeño número de ellos contienen derivados aromáticos (bencénicos) mezclados con terpenos”<sup>5</sup>

### **Compuestos fenólicos**

Se refieren a un grupo de compuestos que poseen un anillo aromático con uno o más sustituyentes hidroxilos, comúnmente como glucósidos. Relativamente polares, tienden a ser solubles en agua, pudiendo ser detectados por el color verde, púrpura, azul o negro que producen cuando se agrega una solución acuosa al 1% de cloruro férrico. Debido a la naturaleza aromática de estos compuestos fenólicos, muestra intensa absorción en la región UV del espectro, este método espectral es importante para su identificación y análisis cuantitativo. Los flavonoides que presentan en extracto hidroalcohólico son: flavonas, flavonoles, isoflavonas, fenilpropanoides, chalconas, auronas, etc.<sup>21</sup>

### **Alcaloides**

En 1819 Meissner utiliza por primera vez la palabra alcaloide al referirse a un grupo de compuestos químicos de naturaleza alcalina, en su mayoría de origen vegetal. Posteriormente en 1910 Winterstein y Trier, amplían la definición a compuestos básicos, definen a los alcaloides más ampliamente como compuestos básicos que contienen nitrógeno y se pueden hallar en vegetales y animales.

Se distribuyen en las diferentes familias vegetales en proporciones distintas, así tenemos que los encontramos abundantemente en las Angiospermas, especialmente Dicotiledóneas, particularmente las familias más ricas son: Apocynaceae, Asteraceae, Loganiaceae, Papaveraceae, Rubiaceae, Ranunculaceae, Solanaceae, entre otras. En las

Monocotiledóneas se restringe a las familias Amaryllidaceae y Liliaceae; raramente se encuentran en hongos, Criptógamas y Gimnospermas. Químicamente los alcaloides contienen carbono hidrogeno y nitrógeno, que generalmente forma parte de un heterociclo y otras forma parte de una cadena abierta, algunos llevan oxígeno, lo que les otorga una serie de propiedades físicas (sólidos, cristalizables), y raramente contienen azufre. Algunos investigadores diferencian entre alcaloides verdaderos, protoalcaloides y pseudoalcaloides. “Los alcaloides verdaderos son compuestos de origen vegetal, con nitrógeno heterocíclico, con carácter básico y procedentes de aminoácidos”<sup>5</sup>; los protoalcaloides son aminas simples, con nitrógeno no heterocíclico, también con carácter básico y formados a partir de aminoácidos y los pseudoalcaloides con las mismas propiedades de los alcaloides pero no se originan de los aminoácidos<sup>5</sup>.

### **Saponinas**

Son metabolitos secundarios, ampliamente distribuidos en las plantas superiores, en las que se presentan en forma de glucósidos. La agitar sus soluciones acuosas forman una espuma estable y abundante, hecho este que dio origen etimológicamente, al nombre genérico de estas sustancias provenientes del latín sapon (jabón).

Se encuentran en plantas muy diversas, entre ellas el abrojo, la saponaria o jabonera, el castaño de Indias y muchas otras. “Las saponinas son principios activos está relacionados con las esterinas vegetales, su característica principal es la de contener muchos grupos hidroxilos y uniones de tipo éter y lactónicas”<sup>21</sup>. Este grupo de metabolitos secundarios de los vegetales tienen interés farmacológico por sus acciones terapéuticas.



#### **2.2.4 Descripción de la cepa Bacteriana empleada**

Las bacterias son microorganismos unicelulares, presentan un tamaño entre 0,5 y 5  $\mu\text{m}$ , y diversas formas incluyendo esferas, barras y hélices. Son procariotas y, por lo tanto, no tienen núcleo ni orgánulos internos, generalmente tienen pared celular compuesta de peptidoglucano; muchas son móviles y disponen de flagelos o de otros sistemas para desplazarse.

#### **A. Características generales del Género *Staphylococcus***

El género está formado por cocos Gram positivos, con un diámetro de 0.5 a 1.5  $\mu\text{m}$ , agrupados como células únicas, en pares, tétradas, cadenas cortas o formando racimos de uvas. El nombre de *Staphylococcus*, del griego *staphyle* que significa racimo de uvas, para describir a los cocos responsables de inflamación y secreción<sup>12</sup>. Los *Staphylococcus* son bacterias anaerobias facultativas, no móviles, no esporuladas, no poseen cápsula, aunque existen algunas cepas que desarrollan una cápsula de limo. La mayoría de los “estafilococos producen catalasa (enzima capaz de desdoblarse el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno libre); característica que se utiliza para diferenciar el género *Staphylococcus* de los géneros *Streptococcus* y *Enterococcus* que son catalasa negativos”<sup>29</sup>. Los estafilococos fueron clasificados inicialmente en un género común en la familia Micrococaceae además de los géneros *Micrococcus*, *Stomacoccus* y *Planococcus*. Sin embargo, en estudios recientes se observaron diferencias con estos géneros, una de las principales es que *Staphylococcus* presenta una cantidad de guanina-citocina (G+C de 30 a 39%), mientras que *Micrococcus* tienen un contenido mayor de G+C de 63 a 73%. Los estudios de equivalencia genética, secuenciación del DNA, hibridación DNA-rRNA, y la secuenciación comparativa del RNAr 16S, han permitido demostrar que los géneros *Staphylococcus* y *Micrococcus* están poco relacionados. Por otro lado, la pared celular de los estafilococos tiene unidos los ácidos teicoicos, los cuales no existen en los micrococcos; otra diferencia es la composición del citocromo y menaquinona de la cadena respiratoria presentes en los estafilococos.<sup>12</sup>

## **B. *Staphylococcus aureus***

Es una bacteria inmóvil, esférica en forma de cocos, gram-positivo, de 0.8 a 1 micra de diámetro, crece en grupos similares a racimos de uvas (Figura 2). Forma parte del microbiota normal de la piel, pero, a su vez, supone uno de los motivos principales de preocupación en salud pública por su capacidad destructora y resistente a toda clase de antimicrobianos. Esta bacteria es el agente causal de la mayoría de las infecciones estafilococales y está asociada a enfermedades tanto nosocomiales como extra hospitalarias. Las infecciones causadas por esta bacteria incluyen osteomielitis, neumonía, sepsis, endocarditis, cerebritis, meningitis y síndrome de la piel escaldada. Los individuos sanos son muchas veces transmisores de enfermedades a individuos inmunodeprimidos. Las infecciones estafilocócicas graves ocurren cuando la resistencia del hospedador es baja debido a cambios hormonales, enfermedades debilitantes, heridas o tratamientos con esteroides u otros fármacos que comprometen el sistema inmunitario<sup>27</sup>.



**Figura 2. Características macroscópicas de *Staphylococcus aureus***

Fuente: Ríos y Flores Arias J. (2016)

### **Factores de virulencia.**

Los factores de virulencia son moléculas formadas por bacterias que tienen la capacidad de originar enfermedades en el ser humano. *S. aureus* produce muchos factores de virulencia, como peptidasas, factores inmunomoduladores y toxinas tales como hemolisinas, enterotoxinas, leucocidinas, toxinas exfoliativas y adhesinas. Las toxinas pueden dañar de manera directa los tejidos o dar inicio a actividades biológicas destructivas. Estas actividades están producidas por componentes de la pared celular, por enzimas degradativas que producen la lisis de células y por células que se acoplan a receptores específicos. Pueden iniciar reacciones tóxicas en un tejido diana concreto o comenzar con una respuesta sistémica al facilitar la liberación acentuada de citosinas. Así, las toxinas son las que ocasionan los síntomas particulares de muchas enfermedades<sup>27</sup>.

*Staphylococcus aureus*, probablemente, es el más variable de los microorganismos patógenos. Puede originar enfermedades por toxinas o superantígenos, invadir cualquier órgano o tejido y producir supuración, necrosis tisular, trombosis vascular y sepsis<sup>41</sup>. Es el microorganismo con mayor capacidad de originar metástasis a distancia. Puede crecer en el citoplasma celular, formar biopelículas y originar sepsis persistente, infección crónica o permanecer quieto y reactivarse meses o años más tarde. Coloniza concretas áreas de la piel y las mucosas, desde donde causa recidiva, contaminan el entorno y se esparce a otros pacientes. En otro orden si la densidad de población bacteriana en el foco infeccioso es alta, *S. aureus* puede crear resistencia a la mayoría de antibióticos empleados en monoterapia<sup>41</sup>.

*Staphylococcus aureus* causa infecciones purulentas en lactantes y niños; en la piel, en furúnculos, pústulas, impétigo e infecciones post-operatorios. “Si la lesión es severa, pasan las barreras locales de la lesión llegando a los ganglios linfáticos y al torrente sanguíneo en donde se

reproduce causando necrosis. Produce intoxicación alimenticia: náuseas, vómitos, diarrea y a menudo shock. Se asocia con enteritis, osteomielitis, pioartrosis, bacteremia y endocarditis”<sup>30-31</sup>

## **2.3 Definición de términos básicos**

### **Extractos**

“Son preparados concentrados de consistencia sólida, líquida o intermedia, derivados generalmente de material vegetal desecado, se obtienen al evaporar parcial o totalmente el disolvente en los líquidos extractivos de origen vegetal”<sup>21</sup>

### **Extracto seco**

“Son aquellos que tienen una consistencia seca y son fácilmente pulverizables, se obtienen por evaporación del disolvente y desecación del residuo”<sup>21</sup>

### **Concentración del extracto**

Extracto obtenido luego de la eliminación total o parcial del disolvente.<sup>21</sup>

### **Droga vegetal**

“Parte de la planta que contiene los principios activos y que se utiliza en terapéutica”<sup>5</sup>

### **Metabolito secundario o Sustancia activa**

“Sustancia química pura (aislada de la droga) responsable de la actividad farmacológica y del uso terapéutico que se le atribuye a una droga”<sup>5</sup>

### **Antibiótico**

Agente biológico o químico que inhibe el crecimiento de los microorganismos.<sup>20</sup>

**Cepa**

“Cultivo puro formado por bacterias descendientes de un solo aislamiento”<sup>20</sup>

**ATCC**

American Type Culture Collection.<sup>20</sup>

**Disco de sensibilidad**

Discos impregnados con algún antimicrobiano usados para determinar la susceptibilidad antimicrobiana por disco difusión.<sup>20</sup>

**Incubación**

Mantenimiento de cultivos bacterianos en condiciones favorables para su desarrollo y multiplicación<sup>20</sup>

**Medio de cultivo**

Medio artificial de sustancias nutritivas, que puede ser sólido, semisólido o líquido, necesarias para el crecimiento y multiplicación bacteriana in vitro<sup>20</sup>

**Halo de inhibición**

Círculo de diferente color o transparencia que se forma alrededor de las colonias de microorganismos.<sup>20</sup>

## 2.4 Hipótesis

### 2.4.1 Hipótesis General

El jarabe con extracto hidroalcohólico de las hojas de *Passiflora ligularis* Juss. “Granadilla” tiene efecto antibacteriano *in vitro* frente a *Staphylococcus aureus*.

### 2.4.2 Hipótesis Específicas

- El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Passiflora ligularis* Juss. “Granadilla”, contiene metabolitos secundarios importantes.
- El extracto de las hojas de *Passiflora ligularis* Juss. “Granadilla” en concentraciones al 25%, 50% y 75% presenta actividad antibacteriana variable frente a *Staphylococcus aureus*.
- La concentración efectiva inhibitoria *in vitro* del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Passiflora ligularis* Juss. “Granadilla” frente a *Staphylococcus aureus* es al 75%.
- El jarabe con el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Passiflora ligularis* Juss. “Granadilla” al 75% tiene efecto antibacteriano *in vitro* frente a *Staphylococcus aureus*.

### **3. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1 Tipo de investigación**

- Analítica: Estudios de evaluación de presunta relación causal entre un factor y un efecto.
- Transversal: En este estudio se recolectan datos en un solo momento, en un tiempo único o momento dado.
- Experimental: Estudio en el que se aplica estímulos a unidades experimentales y lo controla deliberadamente para realizar la investigación. Establecen la relación causa-efecto.
- Prospectiva. Estudios cuyo inicio es anterior a los hechos estudiados, de tal forma que los datos se recogen a medida que van sucediendo.<sup>33</sup>

#### **3.2 Nivel de investigación**

- Explicativo: Estudio permite conocer y explicar las causas o factores que originan o han condicionado la existencia y naturaleza del hecho o fenómeno en estudio.<sup>4</sup>

#### **3.3 Diseño de la investigación**

Determinación del efecto antibacteriano del extracto de hojas de *Passiflora ligularis* Juss. “Granadilla”.

Se formaron cinco grupos distribuidos:

1. Extracto hidroalcohólico concentrado al 25%.
2. Extracto hidroalcohólico concentrado al 50%.
3. Extracto hidroalcohólico concentrado al 75%.
4. Control positivo: Amoxicilina.
5. Control negativo: Agua destilada.

Representados de la siguiente manera:

GRUPO	ASIGNACIÓN	TRATAMIENTO	POSTEST
CONTROL -	R	X	O
CONTROL +	R	X <sub>1</sub>	O <sub>1</sub>
EXTRACTO (25%)	R	X <sub>2</sub>	O <sub>2</sub>
EXTRACTO (50%)	R	X <sub>3</sub>	O <sub>3</sub>
EXTRACTO (75%)	R	X <sub>4</sub>	O <sub>4</sub>

**Dónde:**

- R = Bacteria (*Staphylococcus aureus*)
- X = Tratamiento (concentraciones al 25, 50 y 75% del extracto hidroalcohólico de *Passiflora ligularis* Juss. “Granadilla”)
- O = Observación del efecto (halos de inhibición del crecimiento bacteriano)

En el diseño utilizado en la determinación del efecto antibacteriano del jarabe con extracto de *Passiflora ligularis* Juss. “Granadilla”, se formaron 3 grupos.

1. Jarabe con extracto hidroalcohólico de “granadilla” concentrado al 75%.
2. Control positivo: Amoxicilina.
3. Control negativo. Agua destilada.



Representados de la siguiente manera:

GRUPO	ASIGNACIÓN	TRATAMIENTO	POS TEST
CONTROL -	R	X	O
CONTROL +	R	X <sub>1</sub>	O <sub>1</sub>
JARABE (Extracto al 75%)	R	X <sub>2</sub>	O <sub>2</sub>

**Dónde:**

R = Bacteria (*Staphylococcus aureus*)

X = Tratamiento (Jarabe con extracto hidroalcohólico de *Passiflora ligularis* Juss. “Granadilla” al 75%)

O = Observación del efecto (halos de inhibición del crecimiento bacteriano)

### 3.4 Área de estudio

El estudio se realizó en el Laboratorio de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad María Auxiliadora, ubicada en el distrito de San Juan de Lurigancho-Lima.

### **3.5 Población y muestra**

#### **3.5.1 Población**

Conformada por el microorganismo *Staphylococcus aureus*

Marca: Microbiologics

Certificado N°: 2655.01

Nombre del microorganismo: *Staphylococcus aureus subsp aureus*

Numero de catálogo: 0360

Lote: 360-334

Numero de referencia: ATCC ® 25923™

Especie vegetal *Passiflora ligularis* Juss. “Granadilla”, identificada en el Museo de Historia Natural de la U.N.M. San Marcos.

#### **3.5.2 Muestra**

- Cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923
- Hojas de *Passiflora ligularis* Juss. “Granadilla”

#### **3.5.3 Muestra experimental**

- Conformada por colonias aisladas de la cepa *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.
- Extracto hidroalcohólico de *Passiflora ligularis* Juss. “Granadilla” en concentraciones al 25%, 50% y 75%.
- Jarabe con extracto de *Passiflora ligularis* Juss. “Granadilla” en concentración al 75%.

#### **Criterios de Inclusión**

Placas Petri con agar Mueller Hinton, con 4 mm de espesor.

Cultivos recientes de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

#### **Criterios de exclusión**

Cepas de *Staphylococcus aureus* contaminadas.

### 3.6 Variables y Operacionalización de variables

#### 3.6.1 Variables

- Variable Independiente (X):  
Jarabe con extracto hidroalcohólico de las hojas de *Passiflora ligularis* Juss. “Granadilla”
- Variable Dependiente (Y):  
Efecto antibacteriano frente a la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

### Operacionalización de variables

Variables	Definición Conceptual	Definición Operacional	Dimensiones	Indicadores	Escala de medición	Valor
Variable Independiente (X): Jarabe con extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Passiflora ligularis</i> Juss. “Granadilla”	Formulación que contiene compuestos químicos obtenidos con un solvente	Mezcla de excipientes y compuestos químicos contenidos en el extracto	Concentración de extracto	Concentración con efecto antibacteriano	Cuantitativa	- Concentración: 25%, 50%, 75%
Variable dependiente (Y): Efecto antibacteriano	Capacidad para inhibir el crecimiento bacteriano	Inhibición del crecimiento bacteriano	Halos de inhibición del crecimiento bacteriano.	Crecimiento del halo de inhibición	Cuantitativa	- Resistente: ≤ a 6 mm - Sensible: > a 6mm

### **3.7 Instrumentos de recolección de datos**

Se emplearon fichas de observación, elaboradas adecuadamente para la investigación, en ellas se registraron los resultados de la observación directa en cada uno de los tratamientos.

La técnica que se utilizó fue la observación directa

#### **Instrumento:**

- Ficha de observación (Ficha de recolección de datos). Ver Anexos 4 (a, b, c, d)

### **3.8 Validación de los instrumentos de recolección de datos**

Para la validación del instrumento de recolección de datos se realizó con una prueba piloto, que permitió llevar a cabo un análisis preliminar con tres repeticiones, y posterior juicio de expertos antes de iniciar el estudio a escala.

### 3.9 Procedimientos de recolección de datos

#### 3.9.1 Recolección de la materia prima

Las hojas de *Passiflora ligularis* Juss. “Granadilla”, se recolectaron de la flora cultivada en el Distrito de Pimpingos, Cutervo - Cajamarca a 1748 msnm.

Los pequeños productores de granadilla de la localidad, han pasado del manejo básico de cultivo al sistema de conducción del emparrado (figura 3), para la extensión del cultivo



**Figura 3. Especie vegetal *Passiflora ligularis* Juss. “Granadilla”**

La muestra recolectada fue identificada taxonómicamente según el sistema de clasificación de Cronquist (1988), por el Mg. Hamilton Beltrán, en el museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. (Ver anexo 2)

### **3.9.2 Preparación de la muestra**

Las hojas de *Passiflora ligularis* Juss. “Granadilla” fueron seleccionadas separando las hojas que presentaban agujeros, o alguna muestra dañada por algún ataque de aves o insectos, luego fueron envueltas en papel kraft para su desecación. Para ello las hojas se colocaron a temperatura ambiente por 5 días y luego se completó la desecación en la estufa a 40°C. Se controló el peso cada 24 horas, hasta obtener dos pesos constantes.

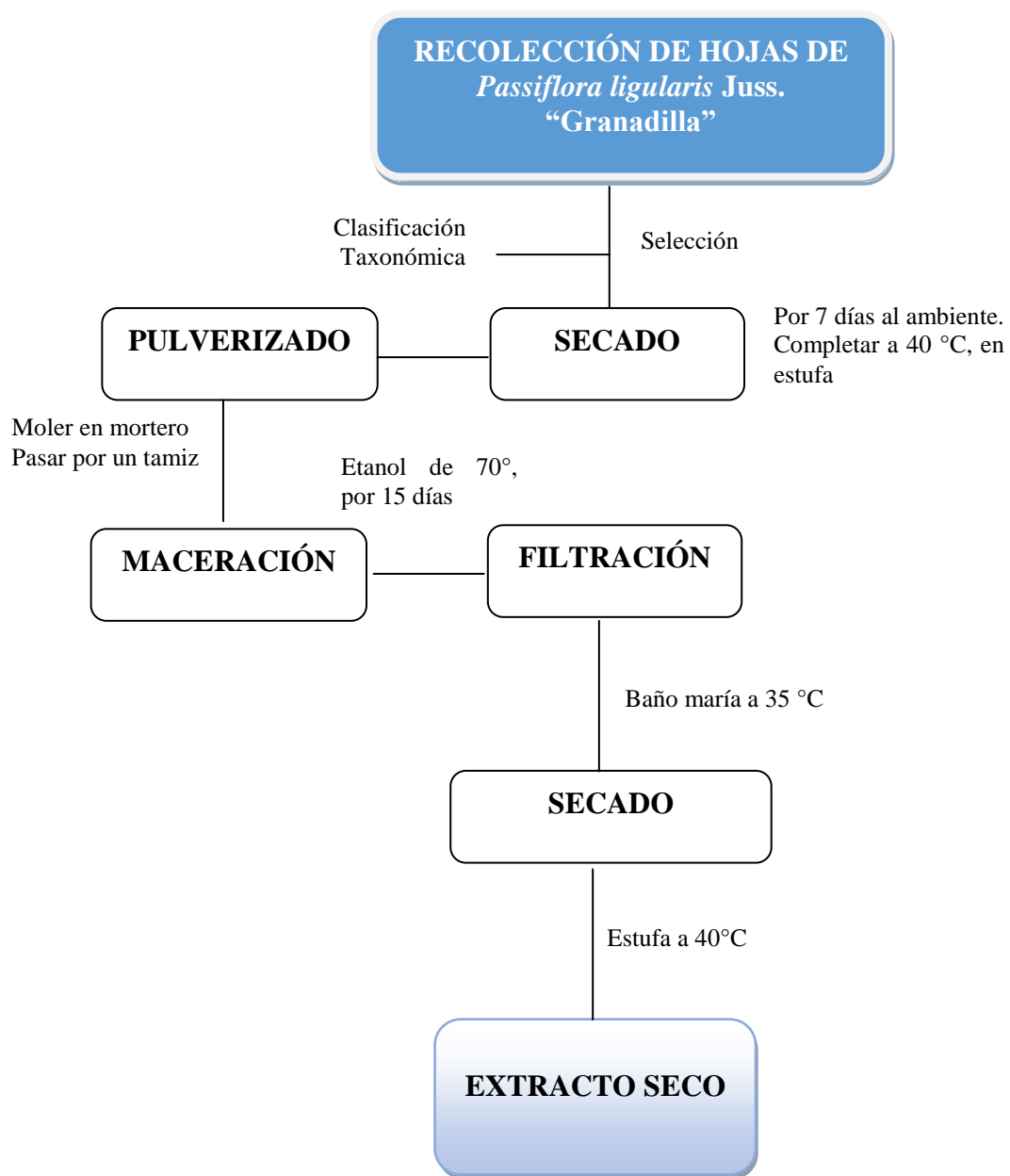
Las hojas totalmente secas, fueron pulverizadas en un mortero y pasadas a través de un tamiz. El producto se guardó en un frasco de vidrio herméticamente cerrado, protegido de la luz hasta el momento de la extracción.

### **3.9.3 Obtención del extracto**

Se pesaron 100 gramos de hojas secas y pulverizadas de “Granadilla”; luego los 100 gr. pesados fueron colocados en un envase de vidrio agregando luego 1 Litro de etanol 70°. Se agitó diariamente durante 7 días hasta cumplirse el tiempo de maceración, luego se filtró, obteniendo los compuestos solubles en el solvente utilizado.

El total del solvente fue eliminado primero en baño maría hasta 100 ml y luego en la estufa a 40° C.

El extracto seco obtenido fue almacenado en frasco ámbar estéril, previo a su uso, a temperatura ambiente, evitando su exposición a la luz solar para prevenir su degradación.



**Figura 4. Obtención del extracto de hojas de *Passiflora ligularis* Juss. "Granadilla"**

**Fuente:** Elaboración propia.



### **3.9.4 Determinaciones cualitativas**

#### **3.9.4.1 Prueba de solubilidad**

Se realizó para determinar la solubilidad del extracto hidroalcohólico seco, en solventes de polaridad seleccionada.

Se marcaron tubos de ensayo del 1 al 10, a cada uno se le adicionó 0,5 mg del extracto seco, (ver formato en anexo 4 a), luego se le adicionó 1 mL de solvente a cada tubo:

Tubo 1. Agua destilada

Tubo 2. Cloruro de sodio

Tubo 3. Alcohol 96°

Tubo 4. Etanol 70°

Tubo 5. Metanol

Tubo 6. Cloroformo

Tubo 7. Acetona

Tubo 8. Acetato de etilo

Tubo 9. Éter etílico

Tubo 10. n-Hexano

Luego, se agitó de 2 a 3 minutos.

#### **3.9.4.2 Estudio fitoquímico**

La determinación de metabolitos secundarios o screening fitoquímico permitió detectar los principales grupos químicos presentes en un extracto figura 5, basados en la reacción de coloración y precipitación.<sup>13</sup>

### **1. Determinación de azúcares**

#### **Reacción de Molish**

En 1 mL del extracto hidroalcohólico se le añadió 1 mL de solución del reactivo A ( $\alpha$ -naftol + etanol al 5%) con 2 gotas de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado. La formación de anillo violeta indica presencia de azúcares.<sup>23</sup>

El ácido sulfúrico concentrado al deshidratar el glúcido da furfural y sus derivados, estos productos se combinan con  $\alpha$  - naftol originando un complejo púrpura.

### **Reacción de Antrona**

En 1 mL del extracto hidroalcohólico se añadió 2 gotas del reactivo de antrona por las paredes del tubo de ensayo. La coloración azul verdosa en la zona de contacto indica presencia de azúcares.<sup>23</sup>

En presencia de ácido sulfúrico concentrado, los carbohidratos son deshidratados a furfurales, estos se condensan con antrona (10-ceto-9, 10-dihidroantraceno) dando un complejo azul verdoso.

## **2. Determinación de taninos**

### **Reacción de cloruro férrico**

El cloruro férrico reacciona con grupos fenólicos puede dar lugar a compuestos coloreados, dado que los grupos hidroxilo actúan como activador del anillo bencénico.

En 1 mL del extracto hidroalcohólico se agregó 3 gotas de cloruro férrico. La coloración negra azulada indica que los taninos pertenecen a los derivados del ácido pirogálico, mientras que la coloración verde indica que derivan de la catequina.<sup>23</sup>

### **Reacción de gelatina**

En 1 mL del extracto hidroalcohólico se agregó 3 gotas de reactivo de gelatina. La formación de precipitado blanco indica presencia de taninos.<sup>23</sup>

Los taninos tienen la propiedad de reaccionar con las proteínas formando compuestos insolubles, que precipitan.

### **3. Determinación de aminoácidos libres**

#### **Reacción de ninhidrina**

En 1 mL del extracto hidroalcohólico se agregó 3 gotas de reactivo de ninhidrina. La coloración violácea indica presencia de aminoácidos libres.<sup>23</sup>

Cada equivalente de aminoácidos consume dos de ninhidrina. El primero oxida el aminoácido y el segundo reacciona con el  $\text{NH}_3$ . La ninhidrina reducida (hidridantina) de la reacción anterior reacciona para dar un compuesto coloreado purpura característico

### **4. Determinación de flavonoides**

#### **Reacción de Shinoda**

En 1 mL del extracto hidroalcohólico se agregó limaduras de magnesio y se añadió 3 gotas de HCl concentrado. Un color rosa o rojo indica presencia de flavonoides.<sup>23</sup>

El magnesio metálico al ser oxidado por el HCl concentrado, da  $\text{H}_2$ , eliminado en forma de gas; el  $\text{MgCl}_2$ , forma complejos con los flavonoides dando coloraciones características.

### **5. Determinación de triterpenoides y esteroides**

#### **Reacción de Lieberman-Burchardat**

En 1 mL de extracto hidroalcohólico se agregó 3 gotas de reactivo de Lieberman Burchardat. Su coloración verde o azul verdoso indica presencia del núcleo esteroideal o triterpenoidal<sup>23</sup>.

Al reaccionar colesterol con anhídrido acético y ácido sulfúrico concentrado, produce pérdida de agua y una protonización del colesterol, formando en medio anhídrido polímeros de hidrocarburos no saturados de intenso color verde azulado.

## **6. Determinación de quinonas**

### **Reacción de Borntrager**

En 1 mL del extracto hidroalcohólico se agregó NaOH 5% en caliente, se dejó enfriar y acidular con HCl al 10%, luego se añadió benceno, se agitó y se dejó reposar. Se observa la separación de la fase bencénica a la cual se añadió  $\text{NH}_4\text{OH}$ , la coloración roja indica la presencia de antraquinonas.<sup>23</sup>

Las naftoquinonas y antraquinonas libres al ser tratadas con solución de hidróxido amónico forman complejos de color rojo cereza.

## **7. Determinación de alcaloides**

### **Reacción de Dragendorff**

En 1 mL del extracto hidroalcohólico se agregó 3 gotas de solución del reactivo de Dragendorff. La formación de precipitado rojo ladrillo indica presencia de alcaloides.<sup>23</sup>

El yoduro de potasio al reaccionar con cloruro mercuríco forma un precipitado rojo de yoduro mercuríco.

### **Reacción de Mayer**

En 1 mL del extracto hidroalcohólico previamente acidulada se agregó 3 gotas de solución del reactivo de Mayer. La formación de precipitado blanco indica presencia de alcaloides.<sup>23</sup>

El reactivo Mayer se basa en la acidez de los alcaloides en forma de sales (clorhidratos) debido a que en medios básicos el reactivo Mayer no precipita.

## **8. Determinación de antocianinas y flavonoides catéquicos**

### **Reacción de Rosenheim**

En 1 mL del extracto hidroalcohólico se agregó 3 gotas de reactivo Rosenheim. La coloración rojo oscura indica resultado positivo.<sup>23</sup>

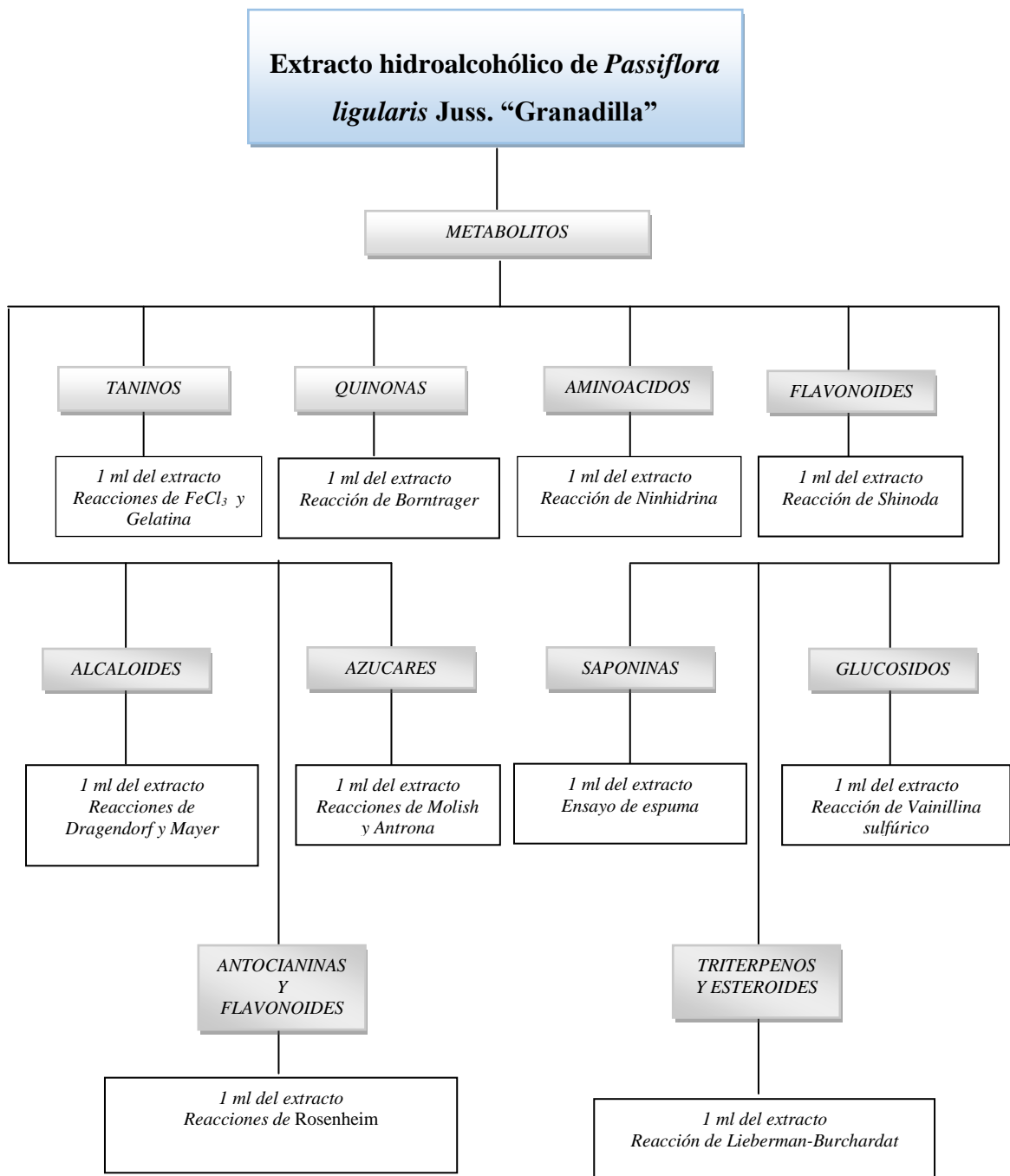
El HCl, deshidrata el grupo hidroxilo de la posición 3 de la catequina, favorecida por la temperatura (100°C), además se produce la ruptura del anillo heterocíclico. La deslocalización produce la coloración marrón de la catequina. El alcohol amílico, es el solvente que extrae la catequina deshidratada observándose la coloración en la fase orgánica

## **9. Determinación de glicósidos**

### **Reacción de Vainillina sulfúrico**

En 1 mL del extracto hidroalcohólico se agregó 3 gotas de reactivo vainillina y 0.5 mL de ácido sulfúrico. El anillo de color violáceo en interfase indica resultado positivo.<sup>23</sup>

Este método se basa en la condensación de la vainillina con proantocianinas en una solución acidificada. La vainillina protonada, un electrófilo débil, reacciona con el anillo del flavonoide en la posición 6 u 8. El producto de esta reacción se deshidrata fácilmente para dar un color rosa ligero a un violaceo<sup>13</sup>.



**Figura 5. Diagrama del estudio Fitoquímico preliminar**

**Fuente:** Elaboración propia

### **3.9.5 Determinación del efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de Granadilla.**

El extracto hidroalcohólico fue evaluado para comprobar su efecto antibacteriano y determinar la concentración óptima para preparar el jarabe, para el procedimiento empleamos el método de difusión en agar, utilizando agar Müller Hinton, medio de cultivo para *S. aureus*.

#### **Preparación de los discos**

Los discos fueron preparados con papel Whatman, picado con un perforador estéril para obtener discos de 6,0 mm de diámetro.

Los discos se llevaron a esterilización, luego fueron impregnados con las concentraciones al 25, 50 y 75% del extracto, con agua destilada (control -) y con amoxicilina (control +).

#### **Preparación de las placas de agar**

A las placas Petri previamente esterilizadas le agregamos 30 mL del agar Müller Hinton, quedando con un grosor aproximado de 4 mm., luego se dejaron reposar 10 minutos.

#### **Preparación del inóculo**

Colonias de *S. aureus* se suspendieron en un caldo Müller Hinton y llevado a incubación en la estufa por 5 horas, que se logra la turbidez del 0,5% de MacFarland.

#### **Técnica de Kirby & Bauer**

Se evaluó mediante la “técnica de Kirby & Bauer descrita por Herrera”<sup>19</sup>

Las placas con agar Müller Hinton, se inocularon con *S. aureus*.

Humedecemos el hisopo estéril en el inóculo, luego lo pasamos varias veces por la superficie del agar, girando levemente hasta sembrar toda la superficie, se dejó reposar unos minutos para luego colocar los discos impregnados con las

concentraciones al 25, 50 y 75% del extracto hidroalcohólico y los controles positivo (amoxicilina) y negativo (agua destilada) sobre el agar inoculado con el microorganismo, presionando suavemente con la pinza asegurando que se encuentren bien adheridos, siempre en área aséptica cerca del mechero.

Al colocar los discos impregnados con las muestras ensayadas, se pone en contacto con la superficie húmeda del agar, el papel secante absorbe la humedad y las diferentes concentraciones del extracto y de los controles (positivo y negativo) difunden al agar.

Luego se llevó a incubación en la estufa a 37 °C por 24 horas. Transcurridas las 24 horas de incubación, los discos aparecieron rodeados por una zona de inhibición.

Se midió “tres diámetros de cada halo de inhibición empleando un vernier. Los valores obtenidos se promediaron para hallar el diámetro promedio. En los casos que no mostró halo de inhibición, reportamos el diámetro del disco 6,0 mm”<sup>32</sup>

Realizamos diez repeticiones para cada concentración del extracto hidroalcohólico. La presencia del halo de inhibición definido alrededor del disco impregnado con extracto hidroalcohólico indicó la actividad antibacteriana positiva.

La concentración del extracto que manifestó el mejor efecto antimicrobiano se incluyó en la formulación del jarabe, para demostrar que el extracto hidroalcohólico de *Passiflora ligularis* Juss. “Granadilla” cuando es utilizado como preparado magistral (jarabe) no pierde sus propiedades antibacterianas frente a *S. aureus*.



### 3.9.6 Formulación del jarabe

#### a.- Jarabe simple

Cada 1000 mL de jarabe simple contiene: <sup>18</sup>

Sacarosa	640,00 g
Agua purificada	360,00 mL

El jarabe simple fue preparado por el método de lixiviación o percolación.

En la balanza analítica, se pesó 640,00 g de sacarosa. Luego fue colocada sobre una base de algodón hidrófilo del percolador y se le agregó gradualmente agua purificada regulando la velocidad de la salida del solvente. El líquido obtenido fue percolado nuevamente hasta la total disolución del azúcar.

#### b.- Jarabe con extracto de granadilla

Cada 100 mL del jarabe contiene:

Extracto de Granadilla al 75% .....	24,974 %
Esencia de fresa .....	0,025 %
Colorante rojo.....	0,001 %
Jarabe simple .....	75,000 %

### 3.9.7 Elaboración del jarabe

Una vez determinada la concentración del extracto hidroalcohólico con mejor efecto antibacteriano, se procedió a la producción del jarabe.

Fase 1: En una probeta ponemos 18,731 g del extracto hidroalcohólico seco de granadilla, agregamos agua purificada hasta 24,974mL (concentración al 75%), mezclamos hasta completa disolución.

Fase 2: Se instaló el percolador y sobre el lecho de algodón hidrófilo colocamos 64,00 g de sacarosa, luego adicionamos lentamente 75 mL de agua purificada, más los 24,974 mL de la mezcla de la fase 1, receptionamos el

percolado en un vaso de precipitado, repetimos hasta completa disolución de la sacarosa.

Cuando la sacarosa estuvo totalmente disuelta agregamos esencia de fresa y colorante rojo. Completamos a 100 mL y acondicionamos en frascos de vidrio.

### **3.9.8 Determinación del efecto antibacteriano del jarabe**

La actividad antibacteriana del jarabe fue evaluada empleando la técnica de difusión en agar, utilizando agar Müller Hinton para *S. aureus*, siguiendo la técnica de Kirby & Bauer descrita por Herrera.<sup>20</sup>

Se prepararon placas Petri con agar Müller Hinton, una vez solidificado fueron inoculadas con *Staphylococcus aureus* utilizando un hisopo estéril. Después de unos minutos en reposo, se colocaron los discos de sensibilidad preparados previamente con el jarabe, el control negativo y el control positivo. Se llevaron luego a incubación a 37 °C por 24 horas; concluido el tiempo se dio lectura del diámetro de los halos de inhibición del microorganismo, tomando tres medidas con un vernier, hallando luego el promedio de diámetro.<sup>32</sup>

### **3.10 Componente ético de la investigación**

El estudio *in vitro* de la presente investigación, no ocasiona riesgo, toda vez que no se investiga en personas ni animales. Se utilizó la cepa microbiológica *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Se tuvo en cuenta las medidas de bioseguridad, protección al medio ambiente y metodologías sobre la manipulación, transporte, utilización, descontaminación y eliminación de desechos.

Otro aspecto que se consideró fueron las medidas que priorizaron la protección del medioambiente, la diversidad biológica y genética.

### **3.11 Procesamiento y análisis de datos**

Los resultados obtenidos en los grupos experimentales se presentan mediante tablas cruzadas y gráficos, siendo analizados, procesados e interpretados mediante el Software estadístico SPSS 25.0 y la hoja de cálculo Microsoft Excel 2013. Para los cálculos respectivos de la media aritmética y la desviación estándar para cada variable; las diferencias estadísticas fueron identificadas mediante análisis de varianza de una vía para datos paramétricos (ANOVA). Se considera la diferencia entre el grupo tratado y el grupo control (\*) cuando  $p < 0.05$  (95% de confianza), muy significativa (\*\*) cuando  $p < 0.01$  (99% de confianza) y altamente significativa (\*\*\*) cuando  $p < 0.001$  (99.9% de confianza).

## 4. RESULTADOS

### 4.1 Estudio Fitoquímico

#### - Solubilidad del extracto

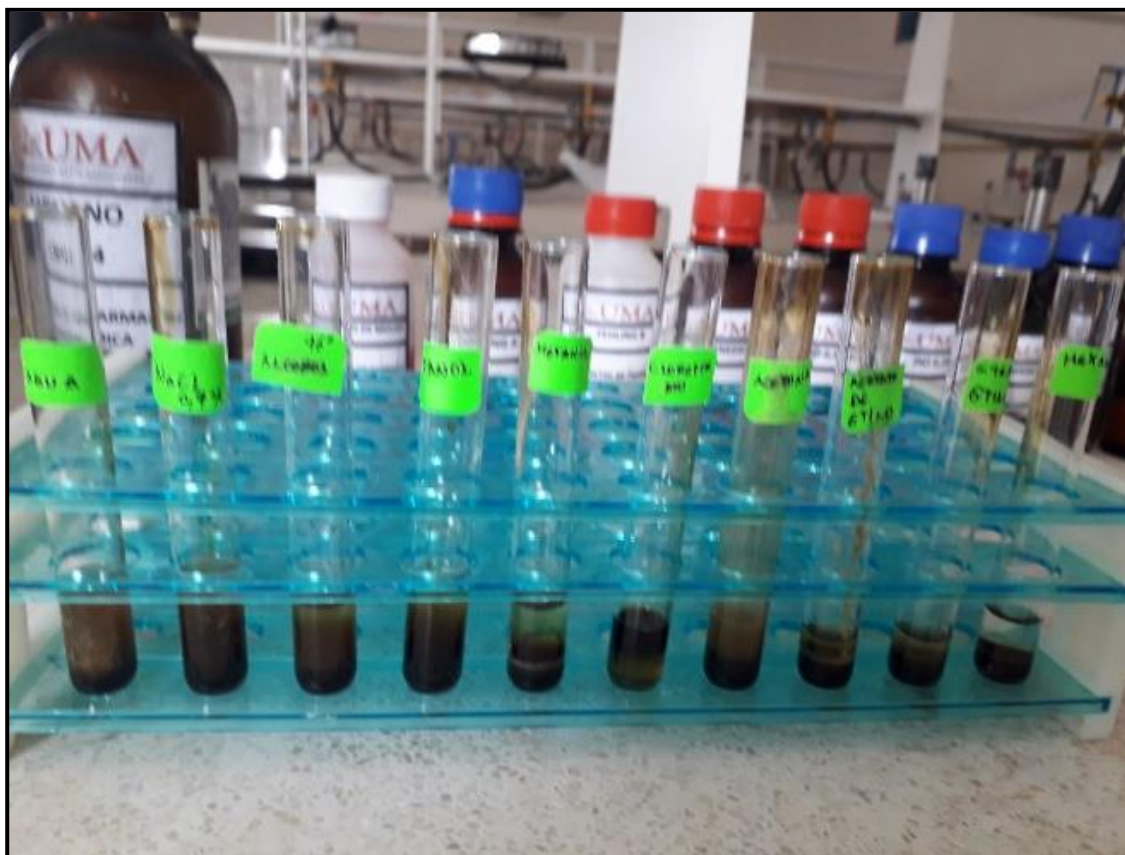
La solubilidad del extracto seco hidroalcohólico de hojas de *Passiflora ligularis* Juss. “Granadilla” presentados en la Tabla 3 y Figura 6, muestran que es muy soluble en cloruro de sodio y etanol 96°; parcialmente en agua y etanol; poco soluble en cloroformo, acetona y acetato de etilo e insoluble en metanol, éter etílico y hexano.

**Tabla 3. Ensayo de solubilidad del extracto hidroalcohólico de hojas de *Passiflora ligularis* Juss. “Granadilla”**

SOLVENTE	RESULTADO
Agua (H <sub>2</sub> O)	++
Cloruro de sodio (NaCl 0,9%)	+++
Etanol (96°)	+++
Etanol (70°)	++
Metanol	-
Cloroformo (CHCl <sub>3</sub> )	+
Acetona (C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> O)	+
Acetato de etilo (C <sub>4</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub> )	+
Eter etílico (C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> ) <sub>2</sub> °	-
n-Hexano (C <sub>6</sub> H <sub>14</sub> )	-

**Leyenda:** Insoluble (-), Poco soluble (+), Soluble (++) , Muy soluble (+++)

**Figura 6. Solubilidad del extracto hidroalcohólico de hojas de *Passiflora ligularis* Juss.  
“Granadilla”**



**Leyenda:** 1. Agua 2. Cloruro de sodio 3. Etanol 96° 4. Etanol 70° 5. Hexano  
6. cloroformo 7. Acetona 8. Acetato de etilo 9. éter etílico 10. Metanol

En relación de los resultados del ensayo fitoquímico, se observa en la Tabla 4 una alta concentración de taninos y flavonoides; seguida de una moderada concentración de azúcares. Además, evidenció una leve concentración de aminoácidos libres, triterpenoides, esteroides y alcaloides. Finalmente, no se demostró la presencia de quinonas, antocianinas, flavonoides catéquicos y glicósidos.

**Tabla 4. Ensayo Fitoquímico preliminar del extracto hidroalcohólico de hojas de *Passiflora ligularis* Juss. “Granadilla”**

METABOLITO	REACCIÓN	RESULTADO
Azúcares	Molish	++
	Antrona	++
Taninos	Cloruro férrico	+++
	Gelatina-sal	++
Aminoácidos libres	Ninhidrina	+
Flavonoides	Shinoda	+++
Saponinas	Espuma	±
Triterpenoides y esteroides	Liberman-Buchard	+
Quinonas	Borntrager	-
Alcaloides	Dragendorff	+
	Mayer	+
Antocianinas y flavonoides catéquicos	Rosenheim	-
Glicósidos	Vainillina sulfúrico	-

**Leyenda:** Ausencia (-), Leve (+), Moderado (++), Abundante (+++) Dudosa (±)

#### 4.2 Efecto Antibacteriano del Extracto hidroalcohólico de las hojas de *Passiflora ligularis* Juss. “Granadilla”

El extracto de hojas de *Passiflora ligularis* Juss. “Granadilla” fue evaluado frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, determinando su efecto. En la Tabla 5, se muestra que los extractos de granadilla al 25%, 50%, 75% y el control positivo (amoxicilina) inhiben el crecimiento de *S. aureus*, mientras que el control negativo (agua destilada), no muestra inhibición.

De las concentraciones del extracto hidroalcohólico de *Passiflora ligularis* Juss. “Granadilla”, se observó en la concentración al 25% una inhibición leve con intervalo del 6,8 mm al 8,9 mm, en la concentración al 50%, aumentó con un intervalo entre 11,6 mm y 14,4mm, y manifestando la inhibición más alta en la concentración al 75% con un intervalo entre 16,9 mm y 19,7 mm.

**Tabla 5. Efecto antimicrobiano *in vitro* de diferentes concentraciones del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Passiflora ligularis* Juss. “Granadilla” frente a la cepa *Staphylococcus aureus* ATCC 25923**

HALOS DE INHIBICIÓN (mm)					
Repeticiones	Concentración del extracto			Control Positivo (AMX)	Control Negativo (agua destilada)
	25%	50%	75%		
1	7,5	14,3	18,3	20,4	6,0
2	8,6	12,8	19,5	21,6	6,0
3	7,0	13,0	17,1	18,9	6,0
4	8,1	13,9	19,5	22,0	6,0
5	7,6	12,1	18,3	23,4	6,0
6	8,6	14,4	16,9	19,9	6,0
7	6,8	11,9	19,5	23,5	6,0
8	8,8	14,3	18,1	21,3	6,0
9	7,3	13,9	18,2	23,6	6,0
10	8,9	11,6	19,7	22,5	6,0
<b>Promedio</b>	7.92	13.22	18.51	21.71	6,0
<b>Desv. St</b>	0.7	1.2	0.9	1.5	0,0

La Tabla 6 muestra el promedio y desviación estándar del diámetro de los halos de inhibición a diferentes niveles de concentración del extracto hidroalcohólico de *Passiflora ligularis* Juss. “granadilla” frente a la cepa *Staphylococcus aureus*. El control positivo (amoxicilina 250 mg) muestra un promedio de 21,7 mm y el control negativo 6,0 mm que corresponde al diámetro del disco de sensibilidad. En el extracto se evaluaron concentraciones de 25, 50 y 75%, encontrándose diámetros promedio de inhibición del crecimiento de *Staphylococcus aureus* de 7,9; 13,2 y 18,5 mm respectivamente. Se aprecia que el mayor diámetro de halo de inhibición del crecimiento de *Staphylococcus aureus* es en la concentración al 75% del extracto, comparado con las concentraciones al 25 y 50%.

El análisis permitió decidir la utilización del extracto hidroalcohólico de granadilla al 75% para la formulación del jarabe y comprobar que el extracto en la concentración ensayada mantiene su efecto antibacteriano.

**Tabla 6. Análisis de inhibición de las concentraciones ensayadas del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Passiflora ligularis* Juss. “Granadilla” frente la cepa *Staphylococcus aureus* ATCC 25923**

Descriptivos								
Inhibición Bacteriana (mm)								
	N	Media	Desv. Desviación	Desv. Error	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
Blanco	10	6,000	,0000	,0000	6,000	6,000	6,0	6,0
AMX	10	21,710	1,6128	,5100	20,556	22,864	18,9	23,6
E. granadilla 25%	10	7,920	,7786	,2462	7,363	8,477	6,8	8,9
E. granadilla 50%	10	13,220	1,0799	,3415	12,447	13,993	11,6	14,4
E. granadilla 75%	10	18,510	1,0159	,3213	17,783	19,237	16,9	19,7



La Tabla 7 representa la comprobación de la hipótesis de investigación, en la que se planteó que la inhibición del crecimiento de *S. aureus* depende de la concentración del extracto hidroalcohólico, del control positivo (amoxicilina) y del control negativo (agua destilada). Se observó un valor p igual a cero, menor que el nivel de significancia 0,05. Con los resultados se acepta la hipótesis de investigación (Ha: La inhibición bacteriana depende de la concentración del extracto) y se rechaza la hipótesis nula (Ho: La inhibición bacteriana no depende de la concentración del extracto)

**Tabla 7. Análisis de varianza**

**ANOVA**

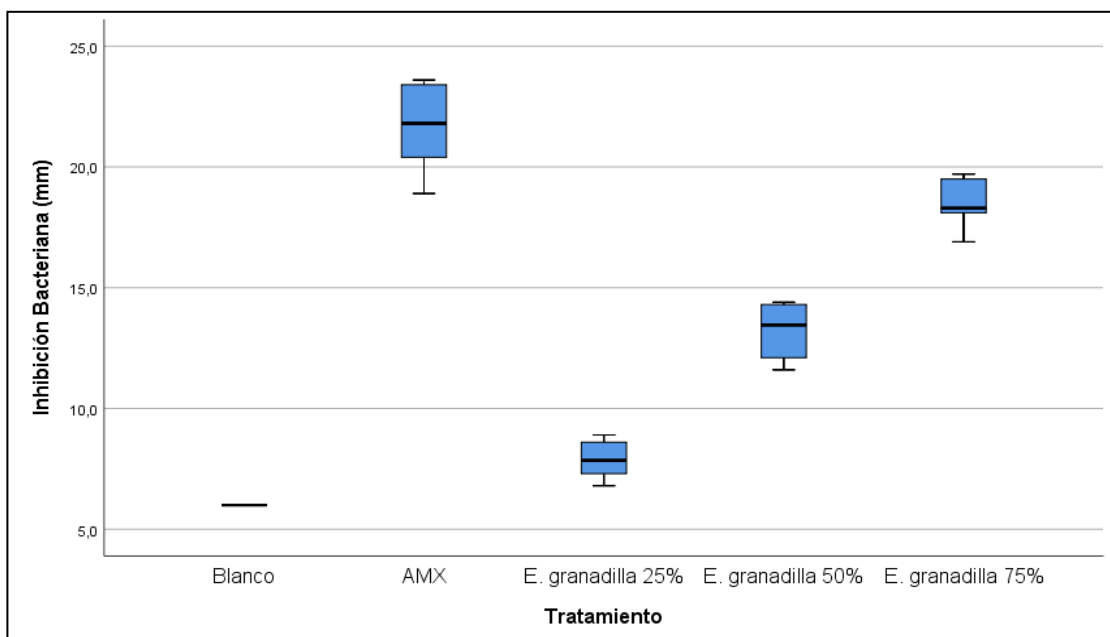
Inhibición Bacteriana (mm)					
	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	1799,651	4	449,913	416,158	,000
Dentro de grupos	48,650	45	1,081		
Total	1848,301	49			

En la Tabla 8, se muestra la diferencia de medias de los tratamientos. Las concentraciones del extracto de granadilla al 25%, 50% y 75%, mostraron promedios de inhibición de 7,9 mm; 13,2 mm; 18,5 mm, respectivamente. El control positivo mostró el mayor promedio de inhibición siendo un 21,7 mm, el control negativo no manifestó inhibición (ver figura 7)

**Tabla 8. Análisis de promedios de subconjuntos**

Inhibición Bacteriana (mm)						
HSD Tukey <sup>a</sup>						
Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05				
		1	2	3	4	5
Blanco	10	6,000				
E. granadilla 25%	10		7,920			
E. granadilla 50%	10			13,220		
E. granadilla 75%	10				18,510	
AMX	10					21,710
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.						
a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 10,000.						

**Figura 7. Promedios de subconjuntos**



El jarabe fue formulado con jarabe simple utilizado como vehículo, al que se le adicionó el extracto en concentración al 75%; además de saborizante y colorante.

En la Tabla 9 se muestra los diámetros de inhibición de crecimiento de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 de los grupos de tratamiento (jarabe con extracto hidroalcohólico de granadilla al 75%, control positivo disco de amoxicilina 250 mg y control negativo (agua destilada).

**Tabla 9. Halos de inhibición de *Staphylococcus aureus* frente al Jarabe con extracto hidroalcohólico de las hojas de *Passiflora ligularis* Juss. “Granadilla” al 75%.**

HALOS DE INHIBICIÓN (mm)			
Repeticiones	Jarabe con extracto al 75%	Control Positivo (AMX)	Control Negativo
1	15,8	18,7	6,0
2	16,1	20,6	6,0
3	14,6	21,4	6,0
4	14,3	19,0	6,0
5	16,1	18,7	6,0
6	18,3	19,1	6,0
7	17,4	22,5	6,0
8	17,3	17,9	6,0
9	18,0	21,3	6,0
10	15,2	20,0	6,0
<b>Promedio</b>	16,31	19,92	6,0
<b>Desv. St</b>	1,3	14,0	0

La Tabla 10 muestra los resultados de inhibición del crecimiento de *S. aureus* reportados en promedio, comparándolos con los resultados del control positivo (amoxicilina 250 mg) y control negativo. En estos resultados se aprecia que el jarabe con extracto hidroalcohólico de *Passiflora ligularis* “granadilla” presentó una inhibición promedio de 16,31 mm, inhibición promedio de 19,92 mm el control positivo y un halo de inhibición promedio y el control negativo 6,0 mm que corresponde al diámetro del disco de sensibilidad.

Los resultados mostraron que el jarabe con extracto alcohólico de *Passiflora ligularis* “granadilla” presentó efecto antibacteriano.

**Tabla 10. Efecto antibacteriano *in vitro* del jarabe con extracto hidroalcohólico de las hojas de *Passiflora ligularis* Juss. “Granadilla” frente a *Staphylococcus aureus*.**

#### Análisis descriptivo

Descriptivos								
Inhibición Bacteriana (mm)								
	N	Media	Desv. Desviación n	Desv. Error	95% del intervalo de confianza para la media		Míni mo	Máxi mo
					Límite inferior	Límite superior		
Blanco	10	6,0000	,00000	,00000	6,0000	6,0000	6,00	6,00
AMX	10	19,9200	1,48309	,46899	18,8591	20,9809	17,90	22,50
Jarabe con extracto	10	16,3100	1,39559	,44132	15,3117	17,3083	14,30	18,30
Total	30	14,0767	6,10532	1,11467	11,7969	16,3564	6,00	22,50

La Tabla 11 representa la comprobación de la hipótesis de investigación, en la que planteamos que el jarabe con 75% extracto hidroalcohólico de *Passiflora ligularis* Juss. “Granadilla” tiene efecto antibacteriano *in vitro* frente a *Staphylococcus aureus*. Se observó valor p cero, menor que el nivel de significancia 0,05.

Los resultados del ANOVA entre grupos señalan que se acepta la hipótesis de investigación y rechaza la hipótesis nula.

Ha: El jarabe con extracto hidroalcohólico de las hojas de *Passiflora ligularis* Juss. “Granadilla” al 75% tiene efecto antibacteriano *in vitro* frente a *Staphylococcus aureus*.

Ho: El jarabe con extracto hidroalcohólico de las hojas de *Passiflora ligularis* Juss. “Granadilla” al 75% no tiene efecto antibacteriano *in vitro* frente a *Staphylococcus aureus*

**Tabla 11. Análisis de varianza**

ANOVA					
Inhibición Bacteriana (mm)					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	1043,649	2	521,824	377,475	,000
Dentro de grupos	37,325	27	1,382		
Total	1080,974	29			

Comparando los resultados de los grupos de tratamiento, se observó que no existe diferencia significativa entre las medias del control positivo (amoxicilina) y del jarabe con extracto de granadilla al 75%, ambos tratamientos mostraron efecto antibacteriano. Con respecto al control negativo no mostró efecto antibacteriano con diferencia significativa comparado con el control positivo y el jarabe con extracto. (Tabla 12)

**Tabla 12. Comparaciones múltiples**

Variable dependiente: Inhibición Bacteriana (mm)						
HSD Tukey						
(I) Tratamiento	(J) Tratamiento	Diferencia de medias (I-J)	Desv. Error	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
Blanco	AMX	-13,92000*	,52582	,000	-15,2237	-12,6163
	Jarabe con extracto	-10,31000*	,52582	,000	-11,6137	-9,0063
AMX	Blanco	13,92000*	,52582	,000	12,6163	15,2237
	Jarabe con extracto	3,61000*	,52582	,000	2,3063	4,9137
Jarabe con extracto	Blanco	10,31000*	,52582	,000	9,0063	11,6137
	AMX	-3,61000*	,52582	,000	-4,9137	-2,3063

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

En la Tabla 13 y Figura 8 de acuerdo con la prueba post-hoc de Tukey, los resultados de los tratamientos control positivo y jarabe con extracto de granadilla son homogéneos, ambos tratamientos mostraron efecto antibacteriano.

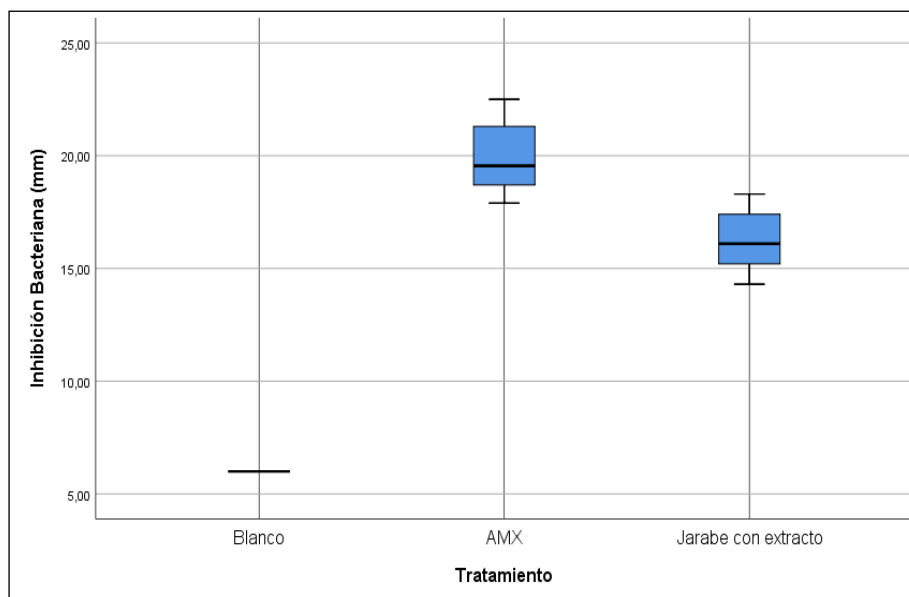
**Tabla 13. Análisis de sub conjuntos de homogeneidad de varianza**

<b>Inhibición Bacteriana (mm)</b>				
HSD Tukey <sup>a</sup>				
Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
Blanco	10	6,0000		
Jarabe con extracto	10		16,3100	
AMX	10			19,9200
Sig.		1,000	1,000	1,000

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

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

**Figura 8. Representación del efecto de los tratamientos**



## 5. DISCUSIÓN

La necesidad de controlar las infecciones bacterianas hace que se recurra al estudio de sustancias activas presentes en las plantas medicinales y comprobación de sus propiedades frente a las diferentes bacterias que atacan al hombre. Por ello, se busca sustancias activas capaces de inhibir el crecimiento bacteriano ya que, a pesar de las moléculas obtenidas por síntesis químicas, se reconoce a las plantas medicinales como una importante fuente de metabolitos secundarios, con diferentes propiedades.

Con el presente trabajo de investigación se demuestra que las plantas medicinales utilizadas tradicionalmente, representan un punto de partida importante de estudio en este campo, la extracción de los metabolitos importantes va a depender de las características de las sustancias químicas presentes en el material vegetal y en la selección de los solventes utilizados en la extracción, estos pueden ser puros o combinados, teniendo en cuenta siempre que la solubilidad está muy relacionada con la polaridad. Los compuestos que forman enlaces de hidrogeno con el agua resultan más solubles en ella que uno que no los forman. Con el ensayo de solubilidad mostrado en la tabla 3 se muestra que el extracto es soluble en solventes polares como agua y etanol.

El ensayo fitoquímico permite detectar los principales grupos químicos presentes en el extracto, mediante reacciones de coloración y precipitación. Las reacciones de coloración están basadas en el movimiento de electrones generado por sustancias ácidas, básicas o sales, cuando un electrón gana energía es excitado y sube de nivel; mientras que las reacciones de precipitación se basan en un intercambio del anión voluminoso del reactivo en acción, que reemplaza a los aniones pequeños de las sales de los metabolitos secundarios que tengan estas características<sup>13</sup>; los resultados presentados en la tabla 4, destaca la presencia abundante de taninos y flavonoides, sustancias polares solubles en el solvente utilizado (Etanol 70°). Estudios reportados por autores como Ruiz J. y Roque<sup>34</sup> (2009) en Perú, Cabrera<sup>8</sup> (2014) en Colombia y Pinduisaca<sup>30</sup> (2016) en Ecuador, revelaron la presencia de flavonoides en sus extractos hidroalcohólicos.



Metabolitos secundarios como los flavonoides se encuentran ampliamente distribuidos entre los vegetales, pueden encontrarse en los diferentes órganos de las plantas, generalmente como glicósidos, haciéndolos muy solubles en agua y solventes polares. A estos compuestos les atribuyen propiedades importantes, utilizados como reductores de la fragilidad capilar, antiinflamatorios, antioxidantes, antivirales, antihelmínticos, antimicrobianos. Los flavonoides presentan estructuras complejas y muy variadas, la presencia y concentración de fitoconstituyentes puede variar debido a factores edáficos o climáticos<sup>23</sup>. En la detección de flavonoides por la reacción de shinoda, el magnesio metálico es oxidado por el ácido clorhídrico, dando productos como el hidrogeno molecular en forma de gas y el cloruro de magnesio que forma complejos con los flavonoides dando coloraciones características. El magnesio divalente, actúa sobre el grupo carbonilo de dos flavonas, produciendo una coloración roja<sup>13</sup>, este aumento de intensidad se debe a que el magnesio divalente intensifica la coloración por estar doblemente coordinado.

Los resultados del presente estudio demuestran que el extracto hidroalcohólico de granadilla inhibe el crecimiento de *Staphylococcus aureus*, este efecto podría deberse a la presencia abundante de taninos y flavonoides. Estudios de investigación, realizados demuestran la capacidad antibacteriana de compuestos fenólicos, frente a *Staphylococcus aureus*; autores como Ruiz J. y Roque<sup>34</sup> (2009), identificaron flavonoides en los extractos hidroalcohólicos obtenidos de *Cassia reticulata* (planta entera), *Ilex guayusa* Loes (hojas), *Piper lineatum* (hojas), y *Terminalia catappa* (hojas), cuatro plantas del nor-oriente peruano”, demostrando la actividad antibacteriana frente a bacterias ensayadas, utilizando el método de difusión en agar Müller Hinton, el mismo que fue utilizado en nuestro estudio.

La concentración del extracto hidroalcohólico al 25% mostró un promedio de inhibición de 7,9 mm frente a *Staphylococcus aureus*, aumentando la inhibición en la medida que se incrementa la concentración del extracto, revelando mayor inhibición en la concentración al 75% con un promedio de 18,5 mm, como se muestra en la tabla 5. Asimismo, el estudio realizado por Castillo (2013)<sup>15</sup> el cual trabajó con el extracto etanólico de la cáscara de camu camu, en concentraciones de 25%, 50%,

75% y 100% frente a *Staphylococcus aureus*, reveló que en cuanto aumenta la concentración del extracto aumenta la efectividad antibacteriana. Estos resultados concuerdan con nuestro estudio indicando que el extracto hidroalcohólico de *Passiflora ligularis* Juss. “Granadilla” es dosis dependiente, es decir a mayor concentración del extracto presentará mejor efecto antibacteriano.

El extracto hidroalcohólico de *Passiflora ligularis* Juss. “Granadilla”, como parte de la formulación del jarabe, mantiene el efecto antibacteriano demostrando capacidad para inhibir el crecimiento de *Staphylococcus aureus*, igual al efecto demostrado por el extracto sin los excipientes. Los resultados de nuestro estudio refuerzan lo reportado por Soto<sup>38</sup> (2015) al elaborar una forma farmacéutica con extracto etanólico de hojas de *Senecio rhizomatus* Rusby, y comprobar el mismo efecto antibacteriano frente a *Staphylococcus aureus*, del extracto solo; esto podría demostrar que los extractos vegetales no pierden sus propiedades farmacológicas al incluirse en la formulación de fitofármacos, lo que facilitaría la administración de los fitoconstituyentes presentes en extractos vegetales, al enmascarar las características organolépticas, .

## 6. CONCLUSIONES

- El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Passiflora ligularis* Juss. “Granadilla” contiene taninos, flavonoides y alcaloides, metabolitos con posible propiedad antibacteriana.
- Las concentraciones al 25%, 50% y 75% del extracto hidroalcohólico tuvieron efecto antibacteriano, siendo la concentración al 75% la que tuvo mayor actividad.
- El jarabe formulado con 75% del extracto de hojas de *Passiflora ligularis* Juss. “Granadilla” tiene efecto antibacteriano frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.
- No existe diferencia estadísticamente significativa entre el efecto antibacteriano del jarabe con extracto hidroalcohólico de las hojas de *passiflora ligularis* Juss “granadilla” al 75%y el control positivo (amoxicilina250mg)

## 7. RECOMEDACIONES

- Incentivar a los estudiantes a realizar investigaciones sobre plantas medicinales para validar su uso en medicina popular.
- Realizar estudios con mayor concentración del extracto hidroalcohólico de *Passiflora ligularis* Juss. “Granadilla” y comparar su efecto inhibitorio con medicamentos sintéticos.
- Realizar estudios de diferentes formulaciones farmacéuticas con el extracto de granadilla.

## 8. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Abadie R., Medina R., y col. Actividad antibacteriana de extractos vegetales frente a cepas intrahospitalarias, Iquitos-Perú. Centro de Investigación de Recursos Naturales de la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana. Rev. ECI Perú. 2014:11:1
2. Arias J. Estudios de polinización y caracterización agromorfológica en *Passiflora ligularis* Juss. (Granadilla) como base para su mejoramiento genético. [Internet] U.N. Colombia. 2014. [consultado 11 marzo 2019]. Disponible desde:  
<http://bdigital.unal.edu.co/48587/1/4339386.pdf>
3. Arnhold S.; Rodríguez L.; Horianski M. Evaluación de la actividad antifúngica de extractos hidroetanólicos de hojas de *Passiflora edulis* Sims (Passifloraceae). XII Simposio Argentino de Farmacobotánica - I Jornadas de Enseñanza de la Farmacobotánica. En línea 2017 [consultado 02 febrero 2018]. Disponible en:  
<http://www.dominguezia.org/volumen/articulos/33107.pdf>
4. Bernal, C. Metodología de la Investigación. Tercera edición. Ed. Pearson Colombia. 2010.
5. Bruneton, J. Farmacognosia. Fitoquímica. Plantas medicinales.. 2da. Edición. Acribia, Zaragoza. 2001.
6. Bussmann R., Perez F. y colaboradores. Actividad antibacteriana de plantas medicinales del norte del Perú. Rev. Arnaldoa 15(1): 127 - 148, 2008
7. Bustos J. Hamdan A. Gutiérrez M. *Staphylococcus aureus*: la reemergencia de un patógeno en la comunidad. [Internet] Rev Biomed 2006; 17:287-305 [consultado 13 enero 2019]. Disponible desde:  
<http://www.revbiomed.uady.mx/pdf/rb061746.pdf>
8. Cabrera S.; Sandoval A.; y col. Potencial antioxidante y antimicrobiano de extractos acuosos e hidroalcohólicos de granadilla (*Passiflora ligularis*).Rev.

Centro de Investigación Nataima. Tolima - Colombia. 2014. Volumen 63, Número 3:204 – 21

9. Calderón A. Comparación In vitro del efecto antimicrobiano y Citotóxico del Extracto etanólico del fruto de la *Passiflora mollissima* (Tumbo) sobre cepas cultivadas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), *Streptococcus oralis* (ATCC 6249), *Streptococcus sanguinis* (ATCC 10556) y *Candida albicans* (ATCC 10231) 2017. (Tesis pregrado) U.P. San Juan Bautista.
10. Carvajal C., Quintero M. Caracterización fotoquímica, actividad antibacteriana y antimicótica del aceite esencial de congona (*Peperomia inaequalifolia* Ruiz & Pav. Piperaceae. 2012. Tesis Universidad Politécnica Salesiana-Sede Quito. Ecuador.
11. Carvajal-De Pabón L., Turbay S., Álvarez L., Et al Relación Entre Los Usos Populares de la Granadilla (*Passiflora Ligularis* Juss) y su Composición Fitoquímica. Revista Scielo [En Línea]. 2014, Vol 12, N° 2 Pp:185–96. [Consulta: 04 Nov. 2018]. Disponible En: [http://Www.Scielo.Org.Co/Scielo.Php?Pid=S1692-35612014000200021&Script=Sci\\_Abstract&Tlng=Es](http://Www.Scielo.Org.Co/Scielo.Php?Pid=S1692-35612014000200021&Script=Sci_Abstract&Tlng=Es)
12. Cervantes, E. et al. Características generales del *Staphylococcus aureus*. Rev Latinoam Patol Clin Med Lab 2014; 61 (1): 28-40
13. Casanova H. Separación de metabolitos secundarios de plantas medicinales e identificación de metabolitos secundarios con reactivos de coloración y precipitación. 1ª. ed. Ed. La Libertad. Trujillo, 2006.
14. Castillo, C. Efecto inhibitorio in vitro de *Myrciaria dubia* ‘camu-camu’ sobre *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans*., Facultad de Medicina, 2013-70. Universidad Nacional de Trujillo.
15. Cerna J. Efecto del infuso de *Passiflora edulis* Sims en *rattus rattus* var. albinus en el modelo de laberinto en cruz elevado. (Tesis pre grado) UN Trujillo. 2013

16. Churampi L., Montes E. Evaluación de la actividad antiinflamatoria del extracto etanólico del fruto de *passiflora mollissima* (kunth) l.h.bailey “tumbo serrano” y su uso como activo biológico en industria cosmética. (Tesis Pregrado) 2015. UNM San Marcos.
17. García M. Actividad antioxidante in vitro de *Passiflora tripartita* var. mollissima “puro puro” procedente de los distritos de Usquil, Charat y Huaranchal . 2017. (Tesis de pregrado) U. César Vallejo. Trujillo.
18. Gennaro, A. Remington Farmacia. Editorial Médica Panamericana. España. Edición 20. Tomos I y II. 2003.P 98
19. Gonzales D. Posible relación existente entre la presencia de toxinas y la sensibilidad a antibióticos en cepas de *Staphylococcus aureus*. [en línea] 2015. [acceso 8 febrero 2019]. Disponible en:  
<https://riull.ull.es/xmlui/bitstream/handle/915/1252/Estudio%20de%20la%20posible%20relacion%20existente%20entre%20la%20presencia%20de%20determinadas%20toxinas%20y%20la%20sensibilidad%20frente%20a%20diversos%20antibioticos%20en%20cepas%20de%20S.%20aureus.pdf?sequence=1>
20. Herrera M. Pruebas de sensibilidad antimicrobiana: metodología de laboratorio. Rev. méd. Hosp. Nac. Niños (Costa Rica) [Internet]. 1999 Jan [Citado 2019 enero 28];34(Suppl):33-41.Disponble:  
[http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1017-85461999000100010&lng=en](http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1017-85461999000100010&lng=en)
21. Kuklinski C. Farmacognosia. Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural. Ed. Omega. Barcelona. 2000.
22. Lizcano A.; Vergara J. Evaluación de la actividad antimicrobiana de los extractos etanólicos y/o aceites esenciales de las especies vegetales *Valeriana pilosa*, *Hesperomeles ferruginea*, *Myrcianthes rhopaloides* y *Passiflora manicata* frente a microorganismos patógenos y fitopatógenos. [Tesis]. Bogotá: Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Microbiología; 2008.

23. Lock. O. Investigación Fitoquímica. 1era. Edición. Pontificia Universidad Católica del Perú. 2016
24. Mayta F, Sacsquispe J. Evaluación in vitro del efecto antibacteriano del extracto etanólico de propóleo de Oxapampa - Perú sobre cultivos de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) y *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923). Rev Estomatol Herediana. 2010; 20(1):19-24.
25. Negrete M. & Quispe, A.. "Estudio in vitro de la capacidad antibacteriana de la hoja de coca (*Erythroxylum coca lam*) frente a bacterias atcc *Staphylococcus Aureus*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*". Univ. Cienc. Soc. [revista en la Internet]. 2015 Dic [citado 23 Ene 2019]; (15): 38-47. Disponible en: [http://www.revistasbolivianas.org.bo/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S8888-88882015000200007&lng=es](http://www.revistasbolivianas.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S8888-88882015000200007&lng=es).
26. Organización Mundial de la Salud. Resistencia a los antibióticos. [en línea]. 2018 Feb. [citado 18 Ene 2019]. Disponible en la URL: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/resistencia-a-los-antibi%C3%B3ticos>.
27. Pallo A., Evaluación del efecto ansiolítico del extracto hidroalcohólico de flor de granadilla (*Passiflora ligularis*) en ratones (*Mus musculus*) [Internet] Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. 2013 [consultado 16 enero 2019]. Disponible desde: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/2452>
28. Palomino, O. Métodos analíticos para la identificación de Plantas Medicinales. Apuntes del Curso de la Asociación Española de Farmacéuticos de la Industria (AEFI); 2001.
29. Pacheco V. Determinación de una metodología y un medio de cultivo para la introducción y micropropagación in vitro de once ecotipos de curcubitas y cuatro pasifloras. Tesis pregrado. U.T, de Cotopaxi. Ecuador. 2005.
30. Pinduisaca E. Estudio Fitoquímico y Evaluación de la Actividad Antioxidante In Vitro de hojas y flores de *Passiflora ligularis*. 2016 [Tesis]. Riobamba-Ecuador Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.



31. Rios N. Dávila R. Actividad antibacteriana in vitro de *Geranium ayavacense* sobre *escherichia coli*, *enterococcus faecalis* y *Staphylococcus aureus*, IMET - EsSalud – 2013. (Tesis de pregrado) UN Amazonia Peruana. 2014.
32. Rodríguez F. Evaluación del efecto antimicrobiano del extracto etanólico del *Ficus citrifolia* Mill. (Moraceae), in vitro frente a cepas de *Staphylococcus aureus*” (Tesis de pre grado) 2018. U. Inca Garcilaso de la Vega.
33. Rojas M. Manual de Investigación y Redacción Científica. Lima: Book Xx press. 2002:94
34. Ruiz J., Roque M. Actividad Antimicrobiana de Cuatro Plantas del Nor-Oriente Peruano. Rev. Ciencia e Investigación UNM San Marcos. Lima 2009; 12(1): 41-47.
35. Sacsquispe R. Velásquez J. Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de Disco Difusión. Lima: Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud, 2002.
36. Saravanan S, Parimelazhagan T. Propiedades antioxidante, antimicrobiano y antidiabéticas in vitro de los polifenoles del fruto de *Passiflora ligularis* Juss. REv. Science and Human Wellness. Volumen 3, Issue, Jun. 2014 56-64
37. Saravia N., Guillinta G. Actividad Antifúngica del extracto de etanol *Schinus molle* y el fluconazol sobre *Candida albicans*. [Internet] Univ. San Martin de Porres 2012 [consultado 02 febrero 2018]. Disponible desde: [http://www.usmp.edu.pe/odonto/servicio/2012/Kiruv.9/Kiru\\_v.9\\_Art6.pdf](http://www.usmp.edu.pe/odonto/servicio/2012/Kiruv.9/Kiru_v.9_Art6.pdf)
38. Soto M. Determinación del efecto antimicrobiano in vitro de un gel elaborado con extracto etanólico de hojas de *Senecio rhizomatus* Rusby (Asteraceae). 2015, (Tesis Pregrado) UNM San Marcos.
39. Torres J. Evaluación de la actividad antimicrobiana de extractos de *Luma chequen* (molina) a. gray “arrayán” frente a patógenos aislados de hemocultivos del Hospital Nacional Guillermo Almenara Irigoyen, Lima – Perú. 2014. (Tesis Pregrado) UNM San Marcos.

40. Ves J, Graziano A, De-Abreu M, Blanco M, Frutos L, Tula L, et al. . Infecciones graves por *Staphylococcus aureus*: características clínicas, sensibilidad antibiótica y uso de antimicrobianos. Serie de casos. Arch. Argent. Pediatr. 2014; 112(4): e152-5.
  
41. Zendejas, G, Avalos, H., Soto M. Microbiología general de *Staphylococcus aureus*: Generalidades, patogenicidad y métodos de identificación. Rev Biomed 2014; 25:129-143

## 9. ANEXOS

### Anexo 1. MATRIZ DE CONSISTENCIA

TÍTULO	FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	OBJETIVOS	FORMULACIÓN DE HIPÓTESIS	CLASIFICACIÓN DE VARIABLES	DEFINICIÓN OPERACIONAL	METODOLOGÍA	POBLACIÓN, MUESTRA Y MUESTREO	INSTRUMENTOS Y PROCESAMIENTO DE DATOS
<p>Efecto antibacteriano <i>In vitro</i> del jarabe con extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Passiflora ligularis</i> Juss. “Granadilla”, frente a la cepa de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923</p>	<p><b>Problema General</b> ¿El jarabe con el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Passiflora ligularis</i> Juss. “Granadilla” tendrá efecto antibacteriano <i>in vitro</i> frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923?</p> <p><b>Problemas Específicos</b> - ¿Cuáles serán los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de <i>Passiflora ligularis</i> Juss. “Granadilla”. - ¿Tendrá efecto antibacteriano el jarabe elaborado a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>passiflora ligularis</i> Juss “granadilla” frente a la cepa de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 - ¿Cuál será la CMI del extracto hidroalcohólico de <i>passiflora ligularis</i> juss frente a la cepa de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923?</p>	<p><b>Objetivos General</b> - Determinar el efecto antibacteriano <i>in vitro</i> del jarabe con extracto de las hojas de <i>Passiflora ligularis</i> Juss. “Granadilla” frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923</p> <p><b>Objetivo Específicos</b> - especificar cualitativamente los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>passiflora ligularis</i> Juss. “granadilla”, mediante reactivos de coloración y/o precipitación. -evaluar el efecto antibacteriano <i>in vitro</i> del jarabe formulado con la concentración efectiva inhibitoria del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>passiflora ligularis</i> juss ”granadilla” frente a la cepa de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923. -especificar la CMI <i>in vitro</i> del extracto hidroalcohólico de las hojas de pasiflora ligularis juss “granadilla” de las concentraciones 25%, 50%y 75%frente a la cepa de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923</p>	<p><b>Hipótesis General</b> El jarabe con extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Passiflora ligularis</i> Juss. (“Granadilla”) tiene efecto antibacteriano <i>in vitro</i> frente a <i>Staphylococcus aureus</i>.</p> <p><b>Hipótesis Específicas</b> -El extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Passiflora ligularis</i> Juss. “Granadilla”, contiene metabolitos secundarios con efecto antibacteriano. - El jarabe con el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Passiflora ligularis</i> Juss. “Granadilla” tiene efecto antibacteriano <i>in vitro</i> frente a <i>Staphylococcus aureus</i>.</p>	<p><b>-Variable Independiente (X):</b> Jarabe con extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Passiflora ligularis</i> Juss. “Granadilla”</p> <p><b>-Variable Dependiente (Y):</b> Efecto antibacteriano.</p>	<p>Mezcla de excipientes y compuestos químicos contenidos en el extracto</p> <p>Inhibición del crecimiento bacteriano</p>	<p><b>Tipo</b> El presente trabajo se desarrollará siguiendo el tipo experimental, transversal; cuantitativa.</p> <p><b>Nivel</b> Experimental</p> <p><b>Diseño</b> De acuerdo a la naturaleza de la variable de investigación, responde a una investigación experimental observacional.</p>	<p><b>Población:</b> La población estudiada estará conformada por la cepa <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC</p> <p><b>Muestra:</b> Resultado de un muestreo probabilístico intencional, conformada por la cepa <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC</p>	<p><b>Instrumento:</b> Ficha de observación</p> <p>Con los resultados obtenidos del ensayo realizado para determinar el porcentaje de inhibición del crecimiento microbiano, se analizarán mediante la prueba de Anova, para comprobar la diferencia entre concentración del extracto e inhibición del crecimiento microbiano.</p>

--	--	--	--	--	--	--	--	--

## Anexo 2. Clasificación Taxonómica



VICERRECTORADO DE  
INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS  
Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA  
VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO  
**MUSEO DE HISTORIA NATURAL**



**"Año del Diálogo y la Reconciliación Nacional"**

### CONSTANCIA N° 062-USM-2018

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

La muestra vegetal (hojas) recibida de José Nelber SANCHEZ CORONEL, estudiante de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad María Auxiliadora-San Juan de Lurigancho; ha sido estudiada y clasificada como: *Passiflora ligularis* Juss. y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988).

**DIVISION: MAGNOLIOPHYTA**

**CLASE: MAGNOLIOPSIDA**

**SUBCLASE: DILENIIDAE**

**ORDEN: VIOALES**

**FAMILIA: PASSIFLORACEAE**

**GENERO: *Passiflora***

**ESPECIE: *Passiflora ligularis* Juss.**

Nombre vulgar: "granadilla"

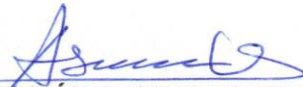
Determinado por: Mg. Hamilton Beltrán Santiago

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

Lima, 23 de febrero de 2018




ACE/ddb

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

### Anexo 3. Certificado de Análisis de *Staphylococcus aureus*



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

<b>Specifications</b> <b>Microorganism Name:</b> Staphylococcus aureus subsp. aureus <b>Catalog Number:</b> 0360 <b>Lot Number:</b> 360-334** <b>Reference Number:</b> ATCC® 25923™** <b>Purity:</b> Pure <b>Passage from Reference:</b> 3	<b>Expiration Date:</b> 2019/4/30 <b>Release Information:</b> <b>Quality Control Technologist:</b> Christine Condon <b>Release Date:</b> 2017/5/15
<b>Performance</b>	
<b>Macroscopic Features:</b> Medium to large, convex, entire edge, both white and pale white colonies, smooth, opaque, beta hemolytic <b>Microscopic Features:</b> Gram positive cocci occurring singly, in pairs and in irregular clusters	<b>Medium:</b> SBAP <b>Method:</b> Gram Stain (1)
<b>ID System:</b> MALDI-TOF See attached ID System results document.	<b>Other Features/ Challenges: Results</b> (1) Catalase (3% Hydrogen Peroxide): positive (1) Coagulase (rabbit plasma - tube): positive (1) Beta Lactamase (Cefinase Disk): negative (1) Ampicillin (10 mcg - Disk Susceptibility): 27 - 35 mm (1) Penicillin (10 units - Disk Susceptibility): 26 - 37 mm (1) Oxacillin (1 mcg - Disk Susceptibility): 18 - 24 mm   Amanda Kuperus Quality Control Manager AUTHORIZED SIGNATURE
<p><b>**Disclaimer:</b> 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><b>Note for Vitek®:</b> Although the Vitek® panel uses many conventional tests, the unique environment of the card, combined with the short incubation period, may produce results that differ from published results obtained by other methods.</p> <p> Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information.</p> <p>Individual products are traceable to a recognized culture collection.</p> <div style="display: flex; align-items: flex-start;"> <div style="margin-right: 20px;">  </div> <div> <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="margin-top: 10px;"> <p>(1) These tests are accredited to ISO/IEC 17025:2005.</p> </div> <div style="margin-top: 20px;">  <p>TESTING CERT #2655.01</p> </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 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 the 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.

Sample Name: Staphylococcus aureus subsp. aureus  
 Sample Description: 0360  
 Sample ID: 360-334  
 Sample Creation Date/Time: 2017-05-10T13:27:18.250 CC  
 Applied MSP Library(ies): BDAL, Mycobacteria Library (bead method), Filamentous Fungi Library 1.0, Listeria

Sample Name	Sample ID	Organism (best match)	Score Value
A4 (+++) (A)	360-334	Staphylococcus aureus	2.31

Comments:

N/A

#### Anexo 4. Ficha de recolección de datos

##### a. Ensayo de Solubilidad

SOLVENTE	RESULTADO
Agua (H <sub>2</sub> O)	
Cloruro de sodio (NaCl 0,9%)	
Etanol (96°)	
Etanol (70°)	
Metanol	
Cloroformo (CHCl <sub>3</sub> )	
Acetona (C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> O)	
Acetato de etilo (C <sub>4</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub> )	
Eter etílico (C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> ) <sub>2</sub> °	
n-Hexano (C <sub>6</sub> H <sub>14</sub> )	



**b. Ensayo Fotoquímico**

<b>METABOLITO</b>	<b>REACCIÓN</b>	<b>RESULTADO</b>
<b>Azúcares</b>	Molish	
	Antrona	
<b>Taninos</b>	Cloruro férrico	
	Gelatina-sal	
<b>Aminoácidos libres</b>	Ninhidrina	
<b>Flavonoides</b>	Shinoda	
<b>Saponinas</b>	Espuma	
<b>Triterpenoides y esteroides</b>	Lieberman-Buchard	
<b>Quinonas</b>	Borntrager	
<b>Alcaloides</b>	Dragendorff	
	Mayer	
<b>Antocianinas y flavonoides catéquicos</b>	Rosenheim	
<b>Glicósidos</b>	Vainillina sulfúrico	

- c. **Medición de los halos de inhibición del crecimiento de *Staphylococcus aureus*, frente al extracto a las 48 horas de incubación**

Diámetro del halo de inhibición (mm)	Concentración del extracto hidroalcohólico de hojas de <i>Passiflora ligularis</i> Juss. “Granadilla” (%)			CONTROL	
	25	50	75	Amoxicilina (+)	Agua destilada (-)
Placa 1					
Placa 2					
Placa 3					
Total					

- d. **Medición de los halos de inhibición del crecimiento de *Staphylococcus aureus*, frente al jarabe con extracto a las 48 horas de incubación**

<b>Diámetro del halo de inhibición (mm)</b>	<b>GRUPOS</b>		
	<b>Jarabe con 75% del extracto</b>	<b>Amoxicilina (+)</b>	<b>Agua destilada (-)</b>
<b>Placa 1</b>			
<b>Placa 2</b>			
<b>Placa 3</b>			
<b>Total</b>			

## Tratamiento del material vegetal



Figura 9. Secado de hojas de *Passiflora ligularis* Juss. “Granadilla”



Figura 10. Molienda



**Figura 11. Preparación del extracto**



**Figura 12. Filtración del extracto hidroalcohólico de *pasiflora ligularis* Juss**



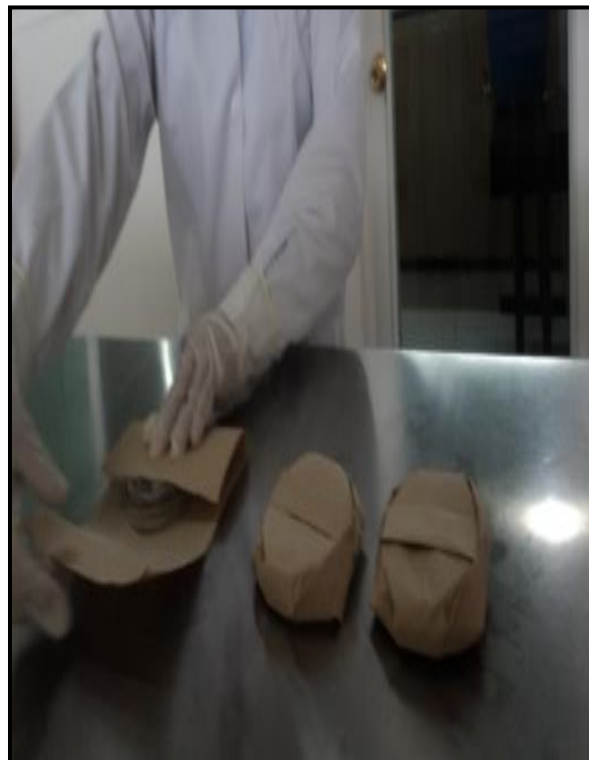
**Figura 13. Concentraciones del extracto**



**Figura 14. Preparación de discos de sensibilidad**

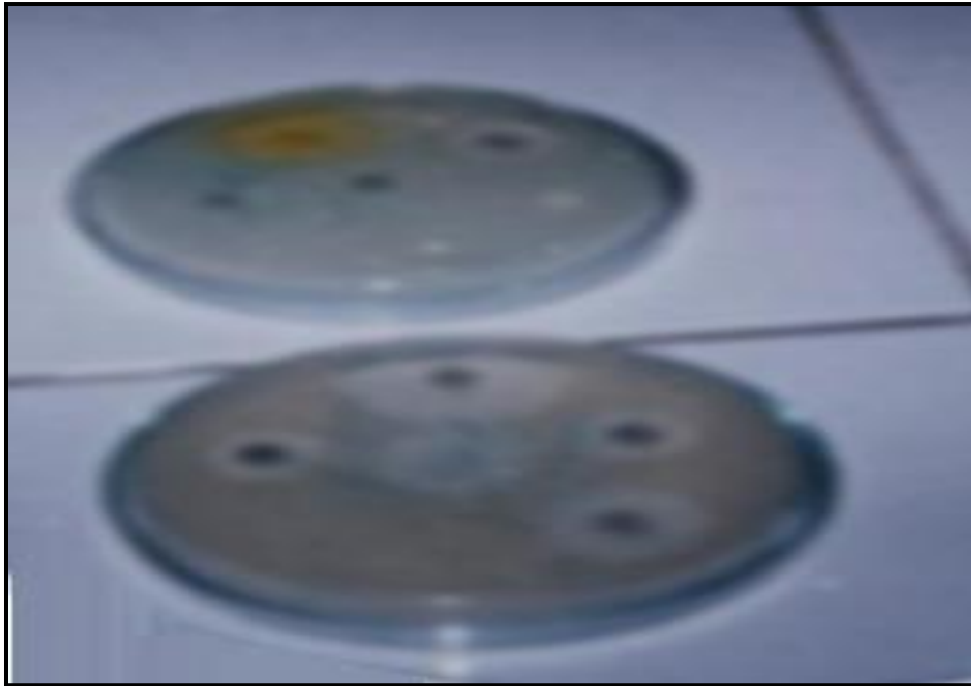


**Figura 15. Medios de cultivo**



**Figura 16. Preparación de las placas para incubar en la estufa.**





**Figura 17.** Lectura de halos de inhibición del crecimiento de *S. aureus*, concentraciones del extracto, controles positivo y negativo.



**Figura 18.** Lectura de halos de inhibición del crecimiento de *S. aureus*, jarabe con extracto, controles positivo y negativo.