



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

ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO ALCOHÓLICO DE
HOJAS DE *Bidens pilosa* L. (CADILLO) SOBRE BACTERIAS
TIPIFICADAS
- 2020

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO

AUTORES:

BACH. CIEZA DIAZ, CELIDA MARILI
BACH. UCANCIAL CIEZA, HENRY DANIEL

ASESOR:

MG. MONTANCHEZ MERCADO, ENRIQUE

LIMA – PERÚ

2020

DEDICATORIA

A Dios, por su amor e infinita bondad, por sostener nuestras manos en cada paso que damos y permitirnos sonreír todos los días.

A nuestras familias, por su apoyo incondicional, moral y económico que me brindan todos los días y especial en el transcurso de nuestra formación universitaria.

AGRADECIMIENTO

A la Universidad Alas Peruanas por ser parte de nuestra formación profesional.

A la Universidad María Auxiliadora, por permitirnos ser parte de ella y abrirnos sus puertas para lograr el objetivo que nos trazamos al inicio de nuestra vida universitaria.

Mg. Domingo Iparraguirre León por brindarme sus conocimientos científicos y experiencia para guiarme durante el desarrollo de la tesis y al Mg Enrique Montanchez Mercado, por el apoyo y guía en la culminación de este trabajo de investigación.

A nuestros padres por ser los principales promotores de nuestros sueños, por su confianza y apoyo incondicional, gracias por cada consejo y enseñanza que sirvieron de guía en nuestra vida universitaria.

Al Laboratorio de Anatomía y Farmacognosia vegetal de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos y Laboratorio Bioen Lab S.A.C; que permitieron sus instalaciones para realizar el presente trabajo de investigación.

A todas las personas que de una u otra forma, me alentaron seguir adelante.

Índice general

Resumen	4
Abstract	5
INTRODUCCIÓN	6
1.1 Formulación del Problema	8
1.2.1. Problema general:	8
1.2.2. Problemas específicos:.....	8
II. MATERIALES Y MÉTODOS	30
2.1 Enfoque y diseño de investigación.....	30
2.2 Población, muestra y muestreo	30
2.3 Variables de investigación.....	30
2.4 Técnica e instrumento de recolección de datos (validación de los instrumentos de recolección de datos).....	30
2.5 Proceso de recolección de datos	31
2.6 Métodos de análisis estadístico	36
2.7 Aspectos éticos	36
III. RESULTADOS	37
IV. DISCUSIÓN	39
4.1 Discusión de resultados	39
4.2 Conclusiones.....	41
4.3 Recomendaciones.....	41
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	42
ANEXOS	481
Anexo A. Operacionalización de las variables.....	51
Anexo B. Ficha de recolección de datos	¡Error! Marcador no definido. 3
Anexo C. Certificación Taxonómica.....	54
Anexo D. Constancia de participación de proceso de preparación	55
Anexo E. Constancia en el proceso de evaluación.....	56
Anexo F. Preparación del extracto alcohólico.....	59
Anexo G. Extracto alcohólico.....	60
Anexo H. Diluciones del extracto alcohólico	61
Anexo I. Certificado de Calidad para <i>Escherichia coli</i>	62
Anexo J. Certificado de Calidad para <i>Salmonella entérica sv</i>	63
Anexo K. Actividad Antibacteriana del extracto alcohólico sobre <i>Escherichia coli</i> ...	64
Anexo L. Actividad Antibacteriana del extracto alcohólico sobre <i>Salmonella E.</i>	65

Índice de Figuras

Figura 1. <i>Bidens pilosa</i> L	11
Figura 2. Preparación del extracto alcohólico de hojas de <i>Bidens pilosa</i> L.....	34
Figura 3. Ensayo microbiológico del extracto alcohólico de hojas de <i>Bidens pilosa</i> L	36

Resumen

Objetivo: Evaluar la actividad antibacteriana del extracto alcohólico de las hojas de *Bidens pilosa* L sobre bacterias tipificadas. La preparación del extracto se realizó a partir de las hojas de especie vegetal procedente del Centro Poblado de San Martín de Porras, provincia de Bagua Grande, Departamento de Amazonas.

Material y método: El estudio se realizó a través del método de maceración; y la actividad antibacteriana se evaluó por medio de la técnica de Difusión en Agar con discos, impregnado con el extracto a las concentraciones de 100, 60, 20 y 10 % frente a *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Salmonella enterica* sv *Enteritidis* ATCC 13076, cepas bacterianas relacionadas a enfermedades de transmisión alimentaria.

Resultados: Los resultados obtenidos indicaron que las hojas de *Bidens pilosa* L no ejerce efecto inhibitorio sobre las cepas del estudio.

Conclusiones: Se concluye que el extracto alcohólico de las hojas de *Bidens pilosa* L no ejerce actividad antibacteriana sobre *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Salmonella enterica* sv *Enteritidis* ATCC 13076, probablemente debido a las características propias de estos microorganismos y a los metabolitos secundarios presentes en las distintas partes del recurso vegetal, así como a su concentración que está influenciada por diversos factores como el lugar de procedencia, etapa de desarrollo, estado nutricional, clima, entre otros.

Palabras clave: *Bidens Pilosa*, actividad antibacteriana, extracto alcohólico, maceración, método de difusión en agar.

Abstract

Objective: To evaluate the antibacterial activity of the alcoholic extract of the leaves of *Bidens pilosa L* on typified bacteria. The preparation of the extract was made from the leaves of a plant species from the San Martín de Porras Population Center, Bagua Grande province, Amazonas Department.

Material and method: The study was carried out through the maceration method; and the antibacterial activity was evaluated by means of the technique of Diffusion in Agar with discs, impregnated with the extract at concentrations of 100, 60, 20 and 10% against *Escherichia coli* ATCC 25922 and *Salmonella enterica sv Enteritidis* ATCC 13076, bacterial strains related to foodborne diseases.

Results: The results obtained indicated that the leaves of *Bidens pilosa L* did not exert an inhibitory effect on the study strains.

Conclusions: It is concluded that the alcoholic extract of the leaves of *Bidens pilosa L* does not exert antibacterial activity on *Escherichia coli* ATCC 25922 and *Salmonella enterica sv Enteritidis* ATCC 13076, probably due to the characteristics of these microorganisms and the secondary metabolites present in the different parts of the plant resource, as well as its concentration, which is influenced by various factors such as the place of origin, stage of development, nutritional status, climate, among others.

Keywords: *Bidens Pilosa*, antibacterial activity, alcoholic extract, maceration, agar diffusion method.

INTRODUCCIÓN

En los últimos años la medicina tradicional ha renacido y ha empezado a desplazar a la industria farmacéutica ya que la población considera que el uso de recursos naturales proporciona alternativas terapéuticas eficaces. Entre las principales razones que explican este fenómeno, se encuentran los efectos secundarios que se reportan por el uso prolongado de los medicamentos, siendo diversos los posibles daños en el organismo.

El conocimiento que se tiene acerca de los beneficios de los diversos recursos vegetales considerados medicinales, se remonta a miles de años atrás y han sido trasladados a la actualidad de modo verbalmente a lo largo de muchas generaciones; lamentablemente, la mayoría de este conocimiento sigue siendo empírico, y a pesar de las investigaciones que se realizan, son pocos los ensayos especializados en el campo de la medicina tradicional.

Las enfermedades gastrointestinales, suelen ser comúnmente tratadas con diversas especies vegetales, y son consideradas que en su mayoría se transmiten por los alimentos, representando un problema de salud pública creciente a nivel mundial ⁽¹⁾, es por ello que la Organización Mundial de la Salud (OMS) considera a la vigilancia y control de las Enfermedades Transmitidas por Alimentos (ETAs), como un componente importante en el plan de acción dentro del marco del Reglamento Sanitario Internacional. ⁽²⁾

Asimismo, en el Perú, durante el período 2014 al 2018, fueron notificados a través del Centro Nacional de Epidemiología, Prevención y Control de Enfermedades, un total de 234 brotes de ETA a nivel nacional, de los cuales hubo un promedio de 47 anuales, con 6098 personas afectadas, 1311 hospitalizados y 29 defunciones en todo el país; encontrándose mayor incidencia en los departamentos de Lima con 22.1%, cuzco 11.1% y Cajamarca 8.5%. ⁽²⁾

Por esta razón es necesario realizar estudios que permitan enfrentar los peligros alimentarios emergentes y los factores que lo condicionan, entre los cuales se encuentran los malos hábitos alimentarios, y las bacterias patógenas; además al ser conocidos que *Bidens pilosa* L., posee efectos farmacológicos, pero con ciertos vacíos sobre sus propiedades antimicrobianas; la presente investigación se planteó como objetivo evaluar la actividad antibacteriana del extracto alcohólico de las hojas de *Bidens pilosa* L. (cadillo) frente a bacterias tipificadas.

1.1. Planteamiento y Formulación del problema:

Actualmente la falta de acceso a servicios de salud provistos por el estado o la falta de recursos económicos para acudir a servicios de salud públicos o privados, ha conllevado a las personas a tomar fármacos sin indicación médica para aliviar sus dolencias o malestares de salud, incluso el Instituto Nacional de Salud (INS) refiere que en el 2018 el 53.4% de usuarios de boticas y farmacias en el Perú compran antibióticos sin receta médica, asimismo, el Instituto Nacional de Estadística e Informática (INEI) indicó que el 50.6% adquirió medicamentos sin receta médica. Todo ello ha traído consigo consecuencias negativas en el mundo de la salud como es la generación de cepas bacterianas resistentes, surgiendo la necesidad de encontrar nuevas alternativas terapéuticas. ⁽³⁾

Entre dichas bacterias se encuentra *Escherichia coli* y *Salmonella enteritidis* las cuales están asociadas a Enfermedades Transmitidas por Alimentos (ETAs), caracterizadas a nivel mundial por ser las causantes de epidemias de infección intestinal, cuyos principales signos y síntomas son: diarrea en un 85%, dolor abdominal 84%, cefalea 81.4%, náusea 78.3% y escalofríos 74.4%, siendo el promedio de evacuaciones diarreicas de seis al día; requiriendo observación de 24 horas y en algunos casos hospitalización. ⁽²⁾

Por este motivo los investigadores han enfocado su atención al desarrollo de experimentos con especies vegetales cuyas propiedades antimicrobianas han sido mencionadas de forma empírica por la cultura popular. Dichos estudios han

evidenciado beneficios antimicrobianos siendo direccionados al campo medicinal y a la formulación de productos para uso preventivo y tratamiento de ETAS; motivo por lo cual la presente investigación busco validar esta información; además de aportar conocimiento sobre las cualidades de *Bidens pilosa* L. (cadillo) en el campo de la salud.

1.2. Formulación del Problema

1.2.1. Problema general:

¿Presenta actividad antibacteriana el extracto alcohólico de hojas de *Bidens pilosa* L. (cadillo) frente a bacterias tipificadas?

1.2.2. Problemas específicos:

- ¿A qué concentración presenta actividad antibacteriana el extracto alcohólico de hojas de *Bidens pilosa* L (cadillo) frente a *Escherichia coli* ATCC 25922?
- ¿A qué concentración presenta actividad antibacteriana el extracto alcohólico de hojas de *Bidens pilosa* L (cadillo) frente a *Salmonella entérica* sv Enteritidis ATCC 13076?

1.3. Marco teórico

- ***Bidens pilosa* (cadillo)**

Bidens pilosa cuyos nombres comunes suelen ser cadillo, saetilla, amor seco, hierba amarilla, romerillo blanco. Es una hierba nativa de América tropical, capaz de invadir una amplia gama de hábitats que van desde suelo húmedo, arena, suelo seco e infértil. Prospera en áreas alteradas, luz solar alta y suelos moderadamente secos, por lo que es capaz de sobrevivir sequías severas; pero se sabe que invade praderas, brezales, claros de bosques, humedales, plantaciones, bordes de caminos, pastos, áreas costeras y áreas agrícolas ⁽⁶⁾.

Desde el punto de vista farmacológico, destacan en esta especie sus propiedades antimicrobianas y antiulcerogénicas, además de efectos antiinflamatorio e hipoglucemiante demostrados para algunos extractos, lo que hace merecedora de atención en estudios futuros. Por otra parte, las investigaciones realizadas indican que los poliacetilenos presentes en esta especie podrían jugar un papel importante en las actividades hipoglucemiante, antimalárica y antitumoral descriptas. ^(9,14)

- **Clasificación Taxonómica**

De acuerdo a su taxonomía se ubica dentro de la siguiente clasificación:

Tabla N°1

ORDEN	Asterales
FAMILIA	Asteraceae
SUB FAMILIA	Asterpideae
TRIBU	Coreopsidaeae
GÉNERO	<i>Bidens</i>
ESPECIE	<i>Bidens pilosa</i> L

Clasificación taxonómica de *Bidens pilosa* L.

Fuente: Museo de Historia Natural UNMSM 2019

- **Descripción botánica**

Hierba anual, lampiña o algo pubescente de 30 a 100 cm de altura y ramificada. Hojas opuestas a veces alternas en la parte superior pecioladas, 3-partidas, sus segmentos de aovados a lanciolados, de 2 a 8 cm de alto, aserrados, agudos o acuminados. Cabezuelas florales terminales, compuestas por flores tubulares y radiadas de color amarillo intenso y las radicales con sobresalientes pétalos blancos. Aquenio provisto de vilario. Involucro campanulado, como de 8 mm de alto, sus brácteas extercares oblongolineales, por lo común más cortas que las interiores. Receptáculo plano o casi plano. Tallo erguido, tetrágono; hojas pennado-partidas, 1-3-yugadas, raramente simples; inflorescencia en capítulos discoideos, amarillos, con las lígulas lineales, tetrágonos, lampiños o con las pestañitas del margen dirigidas hacia arriba. Se

emplean principalmente las hojas y flores, aunque en muchos casos también se usa la planta entera. ^(9,14) Figura N° 1.



Figura N°1 *Bidens pilosa* L. (Cadillo)

Fuente: <https://pxhere.com/es/photo/1331754>

- **Propiedades Farmacológicas**

Es una especie medicinal corroborante, sialagoga, emenagoga, siendo útil todas sus partes para tratar diferentes dolencias. Las hojas se utilizan tanto en infusión y decocción, también se mastican las mismas para las anginas, amigdalitis catarral, aftas bucales, afecciones renales, úlceras gastroduodenales; como cataplasma sobre heridas y tumores, para afecciones abdominales y cólicos (enemas), así como para el reumatismo. Las flores, hojas y raíces son empleadas como antiodontálgicas, igualmente se utilizan como antidiarreico y la raíz para el dolor de oídos. Las semillas tostadas para incisiones externas y el zumo de la especie vegetal entera como antídoto en casos de envenenamiento. ^(6,14)

Además, es un descongestionante hepático, antihemorroidal, cicatrizante, antiemética, diurética, antiinflamatoria, estimulante débil de la musculatura lisa en el útero, tranquilizante, hemostática, emoliente, antitusiva, antipirética, antiséptica para la irritación de la piel y lavados vaginales. ^(9,14)

- **Metabolitos secundarios**

En el tamizaje fitoquímico de esta especie se ha detectado la presencia de aminos, esteroides y esteroides, terpenos, flavonoides, glicósidos, saponinas, mucílagos, alcaloides, azúcares, carotenos, taninos y fenoles. ^(5, 11,13) Tabla N° 1

Tabla N° 2
Constituyentes fotoquímicos de *Bidens pilosa* L.

Constituents	Test	Inference		
		Leaf	Stem	Root
Alkaloids	Dragendorff's reagent	+	+	+
	Mayer's reagent	+	+	+
Flavonoids	Sodium hydroxide test	+	-	-
	Lead acetate test	+	-	+
	Ferric chloride test	+	-	+
Flavonols	Shinoda reduction test	+	-	-
Glycosides	Keller-Killiani	+	+	+
Saponins	Frothing	+	+	+
Tannins	Ferric chloride	+	-	+
Terpenoids	Liebermann-Buchard test	+	-	+
Steroids and sterols	Salkowski test	+	+	+

+ = present; - = absent

Fuente: Oladipupo A y Colbs. ⁽¹¹⁾

- **Mecanismo de acción farmacológica:**

Las propiedades farmacológicas atribuidas a *Bidens pilosa* están relacionada a la gran variedad de principios activos que posee; donde dos son los grupos principales de constituyentes que inhiben los organismos patógenos, estos son los flavonoides y taninos; asimismo, presenta triterpenos y aceites esenciales, que pueden contribuir a sus efectos terapéuticos ⁽⁶⁾

Algunos de estos Fitoconstituyentes de naturaleza fenólica presentan en su estructura química un número variable de grupos hidroxilo que penetran fácilmente a través de la membrana celular bacteriana, se combinan y precipitan las proteínas protoplasmáticas desnaturalizándolas y actuando como venenos protoplasmáticos ⁽⁶⁾

- **Extractos vegetales**

Son mezclas con diversos compuestos químicos o sustancias bioactivas obtenidos a partir de fuentes naturales como materia prima, combinados con diversos solventes, que generalmente suele ser etanol o agua; se puede realizar en frío o en caliente, y el producto resultante puede ser una solución concentrada o espesa en función de la sustancia de origen. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) el 25% de los fármacos distribuidos son de origen vegetal y contienen principios activos modificados, que se utilizan para obtener nuevas estructuras que contiene actividad terapéutica. ⁽¹⁵⁾

Para lograr la extracción se establecen parámetros que puedan garantizar la calidad, seguridad, eficacia y rendimiento del producto medicinal, para ello se debe de conocer las particularidades de los metabolitos o compuestos químicos que se desean extraer; así como del solvente a utilizar el cual debe poseer estabilidad, inercia química, temperatura de ebullición no demasiado elevada para permitir su eliminación total, no demasiado baja para evitar las pérdidas; seguridad de manipulación en lo posible no tóxico ni inflamable. ⁽¹⁶⁾

- **Métodos de preparación de los extractos:**

- **Maceración:** Se produce cuando el material vegetal se encuentra en trozo o pulverizado, de acuerdo a la conveniencia, dejándolo reposar por tres o más días con agitación frecuente hasta completar la extracción. Se realiza a temperatura ambiente y los solventes más usados en este tipo de extracción son el agua y el alcohol o una combinación de ambos, esta maceración no puede prolongarse por mucho tiempo debido a que puede exponerse a hongos u otro tipo de contaminantes. ^(17,18)

- **Percolación:** Utilizado en tinturas y extractos fluidos, se realiza en recipientes cónicos, con una abertura superior y una tapa horadada que permite el paso del líquido, y somete ligera presión a los materiales que están dentro; previamente el material vegetal se humedece y se deja en reposo aproximadamente por 4 horas, transcurrido el tiempo se empaqueta en el percolador permitiendo el paso uniforme del líquido, dejándolo ahí por 24 horas. Una vez cumplido este proceso se deja gotear añadiendo muestra proporcional a $\frac{3}{4}$ del volumen requerido, presionando el total de la masa húmeda para extraer el máximo de líquido. ^(17,18)

- **Digestión:** Este tipo de extracto es por maceración con un ligero calentamiento en la extracción, teniendo en cuenta que no afecte ni altere el principio activo, se emplean temperaturas entre los 35° y 40°C, es usado cuando los metabolitos son extraídos de la parte más dura del recurso natural, el proceso tiene un tiempo de duración de media hora y 24 horas. ^(17,18)

- **Infusión:** Procedimiento práctico y fácil, donde la solución entra en contacto con el recurso del que se extraerá los metabolitos, se recomienda para la extracción de aceites volátiles, dura aproximadamente entre 15 a 30 minutos. ^(16,17)

- **Decocción:** Se usan recursos naturales que sufren de alteraciones en los cambios de temperaturas, en este proceso el vegetal se hierbe durante un periodo de 15 a 60 minutos, dejándolo enfriar y filtrándolo añadiéndole suficiente agua fría hasta

obtener el volumen deseado, pasándolo por un segundo filtrado a través de paño, exprimiendo totalmente el líquido obtenido. ^(17,18)

- **Selección del solvente**

La elección del disolvente depende de parámetros técnicos y económicos como la selectividad; estabilidad inercia química; temperatura de ebullición, la cual no debe ser demasiado elevada para permitir su eliminación total, no demasiado baja para evitar las pérdidas; además no deber ser en lo posible tóxico, ni inflamable ⁽¹⁸⁾.

Los disolventes más utilizados son los hidrocarburos alifáticos: como el éter de petróleo, hexano, propano o butano líquido. Igualmente, se ha recurrido a disolventes halogenados y al etanol, pero los que con mayor frecuencia que se usa, son agua y etanol, aunque generalmente se opta por este último, ya que el primero favorece la formación de mohos. ^(16,18)

- **Enfermedades transmitidas por alimentos (ETAs)**

Las ETAs se consideran un importante problema en el mundo. La Organización Mundial de la Salud señala que, en países menos desarrollados, es la principal causa de enfermedad y muerte, asociadas a una carga socioeconómica significativa. ⁽¹⁹⁾ Los orígenes más frecuentes de estas enfermedades, son las producidas por agentes como: norovirus, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella entéricas*, *Salmonella typhi*, *Campylobacter spp.*, *Clostridium perfringens* y *Shigella sp* ⁽²⁰⁾

Las enfermedades originadas por causas alimentarias, incluyen las intoxicaciones e infecciones, son enfermedades provocadas por la ingestión accidental, incidental o intencional de agua o alimentos contaminados en grandes cantidades con agentes microbiológicos o químicos, debido a la deficiencia en el proceso de elaboración, conservación, manipulación, transporte, distribución o comercialización, tanto de agua como de alimentos. ^(19,20)

- **Epidemiología:**

La Organización Mundial de la Salud menciona que la prevalencia mundial de ETA es comparable con las enfermedades infecciosas: VIH / sida, paludismo, tuberculosis y se estima que su incidencia está en aumento debido a los cambios en los factores ambientales, a la resistencia frente a los antibióticos debido al consumo frecuente e indiscriminado de los fármacos para tratarlas, la existencia de grupos poblacionales vulnerables, al acelerado crecimiento del comercio internacional de alimentos, los avances tecnológicos en la producción, el incremento del uso de aditivos, el crecimiento del consumo de productos industrializados, el recorrido de largos trayectos para su comercialización, la preferencia de alimentos de rápida preparación y el consumo de éstos en la vía pública. ^(19,20)

Estas afecciones se presentan en cualquier lugar, destacando aquellas áreas donde no se practican los hábitos higiénico-sanitarios y existe aglomeración de personas, se han evidenciado brotes de ETAs en instituciones donde se suministra algún tipo de alimentación (comidas, almuerzos, refrigerios). Entre los alimentos de alto riesgo se encuentran implicados los productos lácteos o cárnicos, cuya conservación y manipulación son de suma importancia para evitar que se deterioren y causen daño en la salud. ⁽²¹⁾

- **Clasificación**

Esta categorización no incluye a las reacciones de hipersensibilidad dadas por la ingesta de alimentos. Es importante diferenciar las infecciones alimentarias de las intoxicaciones alimentarias. ⁽²²⁾

- **Infecciones alimentarias:** Son las patologías transmitidas por alimentos provocadas por la ingestión de agua o alimentos contaminados con agentes infecciosos específicos tales como bacterias, hongos, virus, parásitos. ⁽²²⁾

- **Intoxicaciones alimentarias:** Son las patologías transmitidas por alimentos provocadas por el consumo de alimentos o agua contaminados con cantidades suficientes de toxinas, producidas por proliferación bacteriana o con agentes químicos (compuestos orgánicos y metales pesados) que se incorporan a ellos de modo accidental, incidental o intencional, en cualquier momento desde su producción hasta su consumo. ⁽²²⁾

El cuadro clínico crónico se presenta por el consumo de alimentos contaminados con sustancias químicas y depende de la concentración del agente etiológico, la manipulación, la duración de la exposición y la susceptibilidad de la persona. El periodo de inicio de la sintomatología es muy corto. Caracterizado porque, además de los síntomas que se presentan en el cuadro agudo, puede aparecer vértigo, asfixia, sudoración profusa, poca coordinación de los movimientos y a veces convulsiones debido a que puede afectar el sistema nervioso. ⁽²²⁾

- ***Escherichia coli***

Es una bacteria habitual en el intestino del ser humano y de otros animales de sangre caliente. Aunque la mayoría de las cepas son inofensivas, algunas pueden causar una grave enfermedad de transmisión alimentaria. La infección por *Escherichia coli* se transmite generalmente por consumo de agua o alimentos contaminados, como productos cárnicos poco cocidos y leche cruda. ⁽²³⁾

Esta bacteria es utilizada como indicador de posible contaminación fecal y presencia de patógenos en agua y alimentos debido a que se encuentra abundantemente en heces de humanos y animal ^(20, 23)

Los síntomas de la enfermedad incluyen cólicos y diarrea, que puede ser sanguinolenta. También pueden aparecer fiebre y vómitos. La mayoría de los pacientes se recuperan en el término de 10 días, aunque en algunos casos la enfermedad puede causar la muerte. ⁽²³⁾

- **Clasificación taxonómica**

La clasificación taxonómica de *Escherichia coli*, se muestra en la tabla N°2.

Tabla N°3
Clasificación taxonómica de *Escherichia coli*

Reino	Bacteria
Filo	Proteobacteria
Clase	Gammaproteobacteria
Orden	<i>Enterobacteriales</i>
Familia	<i>Enterobacteriaceae</i>
Género	<i>Escherichia</i>
Especie	<i>Escherichia coli</i>

Fuente:<http://biologia1bch.blogspot.com/2011/11/escherichia-coli.html>

- **Patogenicidad**

La patogenicidad y la virulencia de la *Escherichia coli* dependen, de la expresión de diversas proteínas bacterianas codificadas por genes cromosómicos y especialmente plasmídicos, que proceden de la bacteria ingerida o adquiridos por transducción por fagos o por conjugación por plásmidos procedentes de otros microorganismos, aprovechando la gran concentración bacteriana del intestino. Los nuevos genes podrían derivar de mutaciones o por la relativamente frecuente transferencia horizontal, claramente demostrada y frecuente de los genes codificadores de β -lactamasas que podrían derivar de especies muy diferentes filogenéticamente, de Gram positivos a Gram negativos (transferencia trans-gram), algunos de los cuales

podrían incorporarse a los cromosomas; este fenómeno podría llevar a la formación de una nueva especie. ⁽²⁴⁾

Existen numerosas cepas de *Escherichia coli*, que están categorizadas por sus propiedades virulentas que causan diversas enfermedades, los cuales se describen a continuación. ⁽²⁴⁾

- ***Escherichia coli* enteropatógena (EPEC):**

La adherencia de EPEC está mediada por un flagelo y por el pili tipo IV (BFP: bundle-forming pilus) por su sistema de secreción tipo 3 (TSS3) inyecta una proteína en la célula en el que se encuentra EspF dirigiéndose al nucléolo y bloquea los procesos de ARNr reorganizando la actina ocasionando alteración en la morfología para formar las lesiones de adhesión. Afecta a los niños de 2 meses hasta los 2 años donde el periodo de incubación es de 3-24 horas con cuadros diarreicos y fiebre. ⁽²⁴⁾

- ***Escherichia coli* enteroagregativa (EAEC):**

Como primer paso se da la adhesión de fimbrias (AAF) delgadas con proteínas y aglutinas que son estables al calor (entre 1-2 horas). La enterotoxina (EAST-1) tiene actividad sobre guanilatociclasa (GC) permite el incremento de GMPc, los cambios incrementan la secreción del moco, pero también abre paso a la bacteria por su actividad mucolítica. Causa diarreas agudas tanto en niños y adulto su incubación es de 8 días teniendo una duración de 18 a 20 días. ⁽²⁵⁾

- ***Escherichia coli* enteroinvasora (EIEC) y *Escherichia coli* adherente invasora. (AIEC):**

Estos dos serotipos tienen una forma muy similar de patogenicidad, consiste en atravesar las células M. (células membranosas o micropliegues), son fagocitados por los macrófagos que a su vez con la ayuda IpaB (antígenos de invasión del plásmido) se libera. AIEC se une por medio del pili tipo 1 que reconoce el oligosacárido del receptor

de superficie de la célula CEACAM6 e invade. Se presenta diarrea acuosa, presencia de moco y dolor abdominal. ⁽²⁵⁾

- ***Escherichia coli* enterohemorrágico (EHEC):**

Poseen los mismos mecanismos de adherencia que las EPEC con la diferencia de un plásmido de 60 Mdalton, las que producen toxinas hemolíticas siendo la toxina STX su principal mecanismo de acción en los ribosomas, exactamente en la subunidad 60S de las células intestinales. Periodo de incubación puede variar 1 a 8 días ocasionando síntomas como diarrea sanguinolenta con o sin vómitos[RH1][UdW2], fiebre, dolor abdominal. ⁽²²⁾

- ***Escherichia coli* de adherencia difusa (DAEC):**

Las (adhesinas anfibriales) Afa/Dr (adesinas fimbriales) de ECAD reconocen a hDAF (human decay- accelerating factor) o CEACAM6, que activa la quinasa Src para su movilización y organización de FAD alrededor de la bacteria y produce elongación ocasionando la pérdida de las microvellosidades y secreción de agua y electrolitos. ⁽²⁵⁾

• ***Salmonella enterica*.**

Salmonella enterica, es un bacilo gram negativo, flagelado, no capsulado, aerobio, anaerobio facultativo.y se han identificado más de 2500 serovariedades, donde *S. enterica* serovariedad thyphimurium y *Salmonella enterica* seroviariedad enteritidis, son las que con mayor frecuencia producen enfermedad salmonelosis. Esta bacteria generalmente vive en los intestinos de animales y humanos y se libera mediante las heces. Los humanos se infectan con mayor frecuencia mediante el agua o alimentos contaminados. ^(26,27)

En general, las personas que tienen una infección por *Salmonela*, no tienen síntomas, pero otras manifiestan diarrea, fiebre y calambres abdominales dentro de las 8 a 72 horas. La mayoría de las personas se recuperan dentro de unos pocos días sin tratamiento específico. ⁽²⁷⁾

- **Clasificación taxonómica**

La clasificación taxonómica de *Salmonella enterica*, se muestra en la tabla N°3.

Tabla N°4
Clasificación taxonómica de *Salmonella entérica*

Reino	Bacteria
Filo	Proteobacteria
Clase	<i>Gammaproteobacteria</i>
Orden	<i>Enterobacteriales</i>
Familia	<i>Enterobacteriaceae</i>
Género	<i>Salmonella</i>
Especie	<i>Salmonella entérica</i>

Fuente: https://es.wikipedia.org/wiki/Salmonella_enterica

- **Patogenicidad**

Una vez que la persona ingiere las bacterias el desarrollo de la enfermedad va a depender fundamentalmente de la cantidad de microorganismos ingeridos (inóculo), de su virulencia y de factores dependientes del huésped. ⁽²⁶⁾

Se precisa, por término medio, un inóculo superior al millón de gérmenes. La acidez gástrica es una barrera natural importante, siendo factores predisponentes aquellas circunstancias que modifican el pH gástrico, como aclorhidria, vagotomía o la toma de

fármacos que lo modifican. Una vez superada la barrera gástrica estos patógenos pasan al intestino delgado, donde encuentran un medio más idóneo, más aún si hay una alteración de la flora intestinal normal.

Se adhieren a receptores específicos de las vellosidades intestinales, atraviesan la mucosa, alcanzan los linfáticos de las placas de Peyer donde se multiplican, pasando a la sangre donde son atrapadas por fagocitos y macrófagos del sistema reticuloendotelial, acumulándose en los órganos ricos en él, como son hígado, el bazo y la médula ósea.

Finalmente vuelven a pasar al intestino y a la vesícula biliar. Estas placas se muestran tumefactas pudiéndose ulcerar la mucosa intestinal pasada la primera semana y originar una hemorragia o la perforación, las dos complicaciones más graves del cuadro. ⁽²⁶⁾ Pacientes con trastornos de su inmunidad, sobre todo celular, como en el caso de los pacientes infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) o en los pacientes oncológicos presentan mayor susceptibilidad y desarrollan procesos más graves. ⁽²⁷⁾

Esta bacteria es la causa más común de enfermedades transmitidas por alimentos contaminados. Los principales síntomas que pueden causar son: diarreas sin fiebres o fiebres entéricas con dolor abdominal, cólicos, náuseas, vómitos, escalofríos, dolor muscular, etc. Salmonella es uno de los géneros más complejos que existen hoy en día y a pesar de su gran conocimiento sobre su actuación y poder patógeno, continúa siendo una de las principales causas de mortalidad y morbilidad en adultos y niños y uno de los productores de infecciones alimentarias de origen bacteriano más importantes. ⁽²⁷⁾

- **Métodos de estudio de la actividad antimicrobiana**

Existen diferentes métodos de laboratorio para determinar In vitro la susceptibilidad de bacterias ante agentes microbianos como son los extractos de especies vegetales;

pero estos no son igualmente sensibles o no se basan en los mismos principios, permitiendo que los resultados sean influenciados por el método seleccionado, los microorganismos usados, el grado de solubilidad de cada compuesto evaluado, entre otros ⁽²⁸⁾

Dentro de estos métodos, los más frecuentes utilizados por su sencillez y rapidez son: La técnica de difusión en agar con discos, que se utiliza para generar datos cualitativos principalmente y los métodos de dilución en medio líquido y/o en agar, permiten datos cuantitativos ^(28,29)

- **Método de difusión en agar con discos**

El fundamento está basado en el trabajo de Bauer, Kirby y colaboradores, establece en forma cuantitativa el efecto de un conjunto de sustancias ensayadas sobre cepas bacterianas. Este método se basa en la relación entre la concentración de la sustancia que se necesita para detener el desarrollo microorganismos y el halo de inhibición que se forma en la superficie de una placa de agar con un medio de cultivo adecuado con la bacteria a ensayar, en donde se coloca un disco de papel filtro de 6mm de diámetro. Dentro del periodo de incubación el disco impregnado de antibiótico se pone en contacto con la superficie húmeda de agar. El antibiótico difunde radialmente a través del espesor del agar a partir del disco formándose un gradiente de concentración apareciendo una zona de inhibición. ⁽³⁰⁾

- **Método de dilución**

Este método fue uno de los primeros, permite la determinación cuantitativa de la sensibilidad de un antibiótico, se coloca concentraciones crecientes del agente antibacteriano se encuentra diluido en un medio de cultivo (caldo o agar), permite inocular simultáneamente un gran número de microorganismos, sin embargo, presenta desventajas siendo laborioso, costoso por la cantidad de material y de manipulaciones necesarias para su realización siendo limitado su uso a casos especiales. ⁽³¹⁾

- **Definición de términos básicos**

- **Aceite esencial:** Obtenido de una materia prima vegetal, ya sea por destilación con agua o vapor, o mediante un proceso mecánico, o por destilación seca. Son productos químicos muy aromáticos, no grasos, ligeros y volátiles (poco densos)
- **Antibiótico:** Agente biológico o químico que inhibe el crecimiento de los microorganismos.
- **Cepa:** Cultivo puro formado por bacterias descendientes de un solo aislamiento.
- **Colonia:** Crecimiento visible bacteriano, generalmente en medios sólidos, originada por la multiplicación de una sola bacteria preexistente.
- **Extracción:** Procedimiento de división y/o separación de una sustancia que pueden diluirse en dos disolventes no miscibles entre sí, con distinto grado de solubilidad y que están en contacto a través de una interface
- **In vitro:** es una técnica que consiste en realizar un experimento ya sea en tubo de ensayo o un ambiente controlado.
- **Halo de inhibición:** Zona alrededor de un disco de antimicrobiano.
- **Metabolito:** Son compuestos, generalmente orgánicos, que participan en las reacciones químicas que tiene lugar a nivel celular.
- **Resistencia:** Estado firme, soportar una fuerza de oposición por un tiempo determinado.
- **Toxina:** Sustancia tóxica producida en el cuerpo humano por acción de ciertos microorganismos

1.4. Estudio de Antecedentes:

A pesar de haberse hecho una indagación meticulosa sobre la actividad antibacteriana de *Bidens pilosa* L (cadillo), no se ha encontrado suficientes investigaciones; motivo por el cual se plasman antecedentes de otras especies del género *Bidens*.

Chura S. EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIBACTERIANO “*in vitro*” DEL EXTRACTO ETANÓLICO DEL MISHICO (*Bidens andicola*) SOBRE *Staphylococcus aureus* Y *Escherichia coli*. Tesis para obtener el título profesional de Químico Farmacéutico, en la Universidad Andina “Néstor Cáceres Velásquez”. Perú, **2019**.

Presento como objetivos identificar los componentes químicos y evaluar el efecto antibacteriano *in vitro* del extracto etanólico del *Bidens andicola* frente a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. La preparación del extracto etanólico se realizó por el método de maceración; la identificación de los metabolitos por el método de Cromatografía de capa fina y la actividad antimicrobiana se evaluó a través del método difusión en agar con pozos, comparando su efectividad con los antibióticos Vancomicina 30ug y Amikacina 30ug, según el microorganismo; para lo cual el extracto se trabajó a cuatro concentraciones. Los resultados evidenciaron la presencia de terpenos, flavonoides, cumarinas, taninos y saponinas terpenoidales; respecto a la actividad antibacteriana , se observó que *Staphylococcus aureus* fue sensible a las concentraciones de 100%, 75% , 50% y 25% , con la formación de halos de 23mm, 16.8mm, 15mm y 11.2 mm respectivamente; y frente a la vancomicina 30ug, 19.9mm ; a diferencia de *Escherichia coli* , donde no se evidencio actividad alguna, en contraste con su control positivo (amikacina) que formo un halo de 22.1mm. Llegando a la conclusión que el extracto etanólico del *Bidens andicola* presenta actividad antibacteriana únicamente frente a *Staphylococcus aureus* ⁽⁵⁾

Alonso E. EFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL EXTRACTO ACUOSO DE HOJAS DE *Bidens pilosa* (CADILLO) FRENTE A *Staphylococcus aureus*. Tesis para optar el título profesional de químico farmacéutico en la Universidad Católica los Angeles – Chimbote. Perú. 2019

Presentó como objetivo determinar el efecto antibacteriano in vitro del extracto acuoso de hojas de *Bidens pilosa* (cadillo), procedente del centro poblado Huancaquito Bajo, Provincia de Virú, departamento de La Libertad, frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. La preparación del extracto acuoso se realizó por el método de decocción y La actividad antimicrobiana se evaluó por medio del método de difusión en agar con discos según Kirby-Bauer, como control positivo se utilizó Doxiciclina 30µg, [RH3] para lo

cual el extracto se trabajó a dos concentraciones. Los resultados evidenciaron que para las concentraciones de 10%, 20% y control positivo, los promedios obtenidos en halos de inhibición fueron $15.4 \pm 0.60\text{mm}$ [RH4], $20.1 \pm 1.10\text{mm}$ [RH5]y $26.8 \pm 1.46\text{mm}$; [RH6]respectivamente. Llegando a la conclusión que el extracto acuoso de *Bidens pilosa* (cadillo) presenta actividad antibacteriana sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, pero menor que la Doxiciclina; además basado en investigaciones previas menciona que este efecto presumiblemente se debe a los flavonoides y taninos presentes sus hojas, ya que por su estructura química poseen grupos hidroxilo que penetran fácilmente la membrana celular bacteriana, combinándose y precipitando las proteínas protoplasmáticas actuando de este modo como un veneno. ⁽⁶⁾

Reisancho L. INFLUENCIA DEL MÉTODO DE EXTRACCIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE HOJAS DE AMOR SECO (*Bidens pilosa* L.) EN LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA. Tesis para la obtención del Título de Química Farmacéutica de la Universidad Central del Ecuador. **2019**

Presento entre sus diversos objetivos evaluar la influencia del método de extracción del aceite esencial de *Bidens pilosa* L. sobre su actividad antimicrobiana frente a tres microorganismos. La extracción de los aceites se realizó a partir de las hojas de *Bidens pilosa* L. procedentes de las localidades de Rumipamba y de Tumbaco, a través del método de destilación por arrastre de vapor y extracción con fluidos supercríticos y la actividad antibacteriana se evaluó por el método de microdilución en pocillos; para lo cual se emplearon diluciones del aceite que iban desde $8 \mu\text{g/mL}$ hasta $0,0625\mu\text{g/mL}$ [RH7]para *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853; y entre $0,96\mu\text{g/mL}$ [RH8]y $0,0075\mu\text{g/mL}$ [RH9]para *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Los resultados indicaron todos los aceites ejercieron actividad, donde el extraído por destilación por arrastre de vapor de la localidad Tumbaco y Rumipamba a una concentración de $8 \mu\text{g/mL}$ ejerció un mejor efecto contra *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa* respectivamente; y que el aceite esencial extraído por fluidos supercríticos de la localidad Rumipamba a una concentración de $8\mu\text{g/mL}$ [RH10]presento una mejor capacidad contra *Staphylococcus aureus*. Llegando a la conclusión bajo un análisis estadístico que el método de extracción utilizado para la

obtención del aceite esencial de *Bidens pilosa* L. no ejerce una influencia significativa en la actividad antimicrobiana y que esta depende más bien del microorganismo en estudio. ⁽⁹⁾

Falwoa A., Muchenje V., Hugob C. and Charimbab G. ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA in vitro DE *Bidens pilosa* y *Moringa oleífera* Y SUS EFECTOS SOBRE LA CALIDAD DE LA CARNE MOLIDA DURANTE EL ALMACENAMIENTO EN FRÍO (traducido) Investigación realizada en Departamento de Ciencia de Ganado y Pastos, Facultad de Ciencias y Agricultura, Universidad de Fort Hare, Sudáfrica, **2019.**

Presentó entre sus diversos objetivos evaluar la actividad antibacteriana de los extractos etanólicos de hoja de *Bidens pilosa* y *Moringa oleífera* frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 33591 *Bacillus cereus* ATCC 10876, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 13518, *Enterococcus faecalis* ATCC 49532, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 19429, *Escherichia coli* ATCC 35218, *Shigella flexinerii* ATCC 12022 y *Serratia marcescens* ATCC 1404. Para la preparación de los extractos se utilizó 200g de los especímenes secos, los cuales fueron macerados en 800 ml de solución etanol-agua (7: 3) a temperatura ambiente durante 2 días con agitación, para luego ser filtrado y concentrado en un rotaevaporador, la actividad antibacteriana se determinó mediante el método de difusión en agar con pocillos. Los resultados mostraron que los extractos presentan un mayor efecto inhibidor contra bacterias gramnegativas que contra gram positivas. La actividad inhibidora de *M. oleífera* (ML) y *B. pilosa* (BP) contra el organismo de prueba oscilaron entre 9 y 19mm [RH11] y 12-17mm [RH12], respectivamente; el mejor efecto inhibidor se observó contra *E. coli* (ML 19mm, [RH13] BP 16mm [RH14]) y *Shigella flexinerii* (ML 18mm [RH15], [RH16] BP). Sin embargo, el extracto de *M. oleífera* fue encontrada inactiva contra *Bacillus cereus* y *Serratia marcescens* mientras que el de *B. pilosa* estaba inactivo contra *Pseudomonas aeruginosa* y *S. marcescens*. Llegando a la conclusión que la capacidad de resistencia de *B. cereus*, *P. aeruginosa* y *S. marcescens* frente a los extractos podría atribuirse a su pared celular o estructura de la membrana hacia el exterior, que restringir la penetración del extracto vegetal. ⁽¹⁰⁾

Oladipupo A y Cols. Actividad antibacteriana in vitro del extracto acuoso de *Bidens pilosa* L (Asteraceae) procedentes de Nigeria. Investigación realizada por el Departamento de Química de la Universidad Estatal de Lagos. Nigeria. **2015.**

Presento como objetivos identificar los componentes químicos y evaluar la actividad antibacteriana del extracto acuoso de las hojas, tallo y raíz de *Bidens pilosa* L. frente a *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella spp*, *Salmonella arizonae*, *S. choleraesuis*, *S. enteritidis*, *S. paratyphi*, *S. paratyphi*, *S. typhi* y *S. typhimurium*. Para la preparación de los extractos se pesó 100g [RH17] de hojas secas y molidas, 150g [RH18] de tallos y 150g [RH19] de raíces, y se agregó agua bidestilada como solvente, se dejó reposar durante dos días, para luego ser filtrados y liofilizados; cada extracto seco se pesó y se suspendió en dimetilsulfóxido (1mg / ml), la identificación de los metabolitos secundarios se realizó por medio de un tamizaje fitoquímico y la actividad antimicrobiana se evaluó a través del método difusión en agar con discos. Los resultados evidenciaron que todos los extractos acuosos presentan Alcaloides, glucósidos, saponinas y esteroides y además el de raíz y hojas flavonoides, taninos y terpenoides, únicamente el de hojas flavonas; respecto a la actividad antibacteriana el extracto de hoja, tallos y raíz ejercen actividad antibacteriana sobre el crecimiento de los microorganismos analizados; obteniéndose mejores resultados en el extracto de hojas, cuyos halos de inhibición oscilaron entre $9,0 \pm 0,6\text{mm}$ [RH20] a $27,3 \pm 1,2\text{mm}$ mm; en comparación con el de tallo y raíz, cuyas medidas fueron $6,0 \pm 0,6\text{mm}$ a $11,7 \pm 0,6\text{mm}$; y $6,0 \pm 0,6\text{mm}$ [RH21] a $16,3 \pm 0,6\text{mm}$ [RH22], respectivamente; los controles positivos (ciprofloxacino y cloranfenicol) presentaron halos entre $13,7\text{mm}$ [RH23] y $32,33\text{mm}$ [RH24]. Llegando a la conclusión que el extracto acuoso de hoja de *Bidens pilosa* ejerce un buen efecto inhibitorio sobre las bacterias analizadas ⁽¹¹⁾

1.5. Importancia y justificación de la investigación:

- **Importancia:** El presente estudio posee gran trascendencia porque permite extender el conocimiento científico respecto a la propiedad antimicrobiana del extracto

alcohólico de las hojas de *Bidens pilosa* L. (Cadillo), contribuyendo en la prevención de las enfermedades transmitidas por alimentos (ETAs). Asimismo, sirve de antecedente, para futuras investigaciones que deseen trabajar con este recurso vegetal y de esta manera brindar nuevos beneficios tanto a la sociedad como a la comunidad científica en el campo farmacéutico.

- **Justificación de la investigación:** En los últimos años diversas investigaciones han reportado que una gran variedad de especies vegetales presentan actividad antibacteriana, debido a la presencia de sus diferentes principios bioactivos o al sinergismo de ellos; sin embargo existe aún un grupo que no cuenta con el suficiente respaldo; por ello se justifica el presente trabajo de investigación que se buscó estudiar las propiedades antimicrobianas de *Bidens pilosa* (cadillo), ya que es necesario corroborar científicamente sus posibles bondades sobre la salud, permitiendo de este modo encontrar nuevos tratamientos frente a diversos microorganismo y de esta manera evitar la diseminación de agentes infecciosos, así como el control de infecciones asociadas a la atención de salud y del mismo modo contribuye en la reducción de la resistencia a los antibióticos y en la disminución de los índices de morbilidad, demostrando una vez más que el uso de las especies vegetales tiene la misma acción terapéutica que los fármacos sintéticos, constituyendo un punto de partida para su uso y la elaboración de fórmulas farmacéuticas más accesibles a la población menos favorecida económicamente.

1.6. Objetivos del estudio:

- **Objetivo General:**

Evaluar la actividad antibacteriana del extracto alcohólico de las hojas de *Bidens pilosa* L. (cadillo) frente a bacterias tipificadas.

- **Objetivos Específicos:**

- Determinar a qué concentración presenta actividad antibacteriana el extracto alcohólico de las hojas de *Bidens pilosa* L (cadillo) frente a *Escherichia coli* ATCC 25922.
- Determinar a qué concentración presentará actividad antibacteriana el extracto alcohólico de las hojas de *Bidens pilosa* L (cadillo) frente a *Salmonella entéricas* sv Enteritidis ATCC 13076.

1.7. Hipótesis de Investigación:

- **Hipótesis general**

El extracto alcohólico de las hojas de *Bidens pilosa* L (cadillo) presenta actividad antibacteriana frente a bacterias tipificadas.

- **Hipótesis específica**

El extracto alcohólico de las hojas de *Bidens pilosa* L (cadillo) en sus diferentes concentraciones presenta actividad antibacteriana frente a *Escherichia coli*. ATCC 25922.

El extracto alcohólico de las hojas de *Bidens pilosa* L (cadillo) en sus diferentes concentraciones presenta actividad antibacteriana frente a *Salmonella entérica* sv Enteritidis ATCC 13076.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Enfoque y diseño de investigación

Este estudio es de enfoque Analítico por ser un estudio que establecen relaciones entre las variables, de asociación o causalidad. Es Longitudinal porque la variable independiente fue medida en diferentes momentos. Es Prospectivo porque se recolectó datos después de iniciada la investigación.

El nivel de investigación es explicativo: Porque su interés se centra en la explicación causal de la actividad antimicrobiana del extracto alcohólico de hojas de *Bidens pilosa* L (cadillo) frente bacterias tipificadas.

El método es Deductivo, porque fue utilizado para deducir conclusiones lógicas a partir de una serie premisas o principios. En este sentido, es un pensamiento que va de lo general a lo particular.

El diseño es experimental, porque se manipuló la variable independiente.

2.2 Población, muestra y muestreo

En el presente estudio se trabajó con un 1 kg de Hojas de *Bidens pilosa* L (cadillo), Siendo nuestra población la planta de *Bidens pilosa* L (cadillo) procedente del Centro Poblado San Martín de Porras, Provincia de Bagua Grande, departamento de Amazonas.

Se utilizó muestras de Extracto alcohólico de hojas de *Bidens pilosa* L (cadillo).

Muestreo no aleatorizado.

2.3 Variable de investigación

El presente estudio presenta como variable independiente el extracto alcohólico de hojas de *Bidens pilosa* L. (cadillo). Y su variable dependiente es actividad antibacteriana.

2.4 Técnica e instrumento de recolección de datos (validación de los instrumentos de recolección de datos)

- Técnica de recolección de datos:

- La técnica que se utilizó fue la maceración, esta técnica fue empleada para la preparación del extracto alcohólico de *Bidens pilosa* L (cadillo). Las hojas fueron pulverizadas y estuvieron [RH25] en contacto directo con el solvente hasta llegar a un punto de equilibrio de la droga (osmosis), el tiempo de maceración puede variar. (16, 32)

- Se empleó este método Difusión en agar disco para determinar la actividad antibacteriana del extracto alcohólico de hojas de *Bidens pilosa* L (cadillo) frente *Escherichia coli* ATCC 25922y *Salmonella entérica* sv Enteritidis ATCC 13076., sobre placas con agar Plate Count, previamente inoculadas con los microorganismos en estudio. Sobre las placas se colocaron discos de papel filtro impregnado con el extracto alcohólico a diferentes concentraciones. Al entrar en contacto con la superficie húmeda del medio de cultivo las diferentes concentraciones del extracto se difundieron [RH26] por gradiente de concentración. (30, 33)

- **Instrumentos de recolección de datos:**

En cuanto al instrumento de recolección se utilizó la ficha de recolección de datos de la evaluación microbiológica del extracto alcohólico de hojas de *Bidens pilosa* L (cadillo). (Anexo N° 2).

- **Validez y confiabilidad de instrumentos de recolección de datos:**

La evaluación de la actividad antimicrobiana y validez de los instrumentos fueron confiables ya que se desarrollaron en laboratorio microbiológico BIOEN LAB S.A.C

2.5 Proceso de recolección de datos

2.5.1 Autorización y coordinaciones previas para la recolección de datos

Para el desarrollo de trabajo se solicitó la carta de presentación correspondiente a la Universidad María Auxiliadora, con ella se gestionó el permiso de acceso a los laboratorios, así como la gestión y pagos correspondientes en los laboratorios externos para el desarrollo y extracción de la muestra.

2.5.2 Aplicación de instrumento(s) de recolección de datos

- **La Obtención de la muestra**

Se recolectó la especie vegetal *Bidens pilosa* L (cadillo) procedente del Centro Poblado de San Martín de Porras, provincia de Bagua Grande, Departamento de Amazonas.

- **Clasificación taxonómica**

Obtenida la muestra se procedió a realizar la clasificación taxonómica en el Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Anexo N°3.

- **Selección y sanitización del recurso vegetal**

Una vez obtenida la materia prima *Bidens pilosa* L (cadillo), se seleccionó un 1Kg de hojas que se encuentren en buen estado, se lavó con abundante agua y se desinfectó con hipoclorito de sodio al 0.5% [RH27] y con alcohol de 70°, después se procedió a realizar el secado en estufa a 37°C. Luego fueron cortadas y/o trituradas para obtener el tamaño de la partícula óptimo, y seguidamente ser secadas por tres días a temperaturas de 40°C, para ser pulverizadas con ayuda de un mortero y tamizadas con el objetivo de obtener un tamaño homogéneo de las partículas, las cuales fueron colocadas en frascos de vidrio ámbar en un lugar fresco y oscuro. (6,9,11,13)

- **Preparación del extracto alcohólico**

La preparación del extracto, se llevó a cabo en el laboratorio de Anatomía y Farmacología vegetal de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

Las hojas de la especie vegetal, fueron lavadas y secadas, para luego ser trituradas manualmente y colocadas en un balón de base plana de una capacidad de 10L, para agregar una solución de alcohol 70%, p/v, y se dejó macerar por un periodo de 10 días, en agitación constante en un ambiente fresco y oscuro. Trascorrido el tiempo, se

filtró en papel whatman N°1 y 2, se recepcionó en un vaso beacker de 5L, y llevo a un baño maría a una temperatura de 40°C hasta sequedad total, con el fin de evaporar los compuestos volátiles. (8,18)

Luego el extracto fue resuspendido con dimetil sulfóxido (DMSO) y a partir de este se preparó Las diferentes concentraciones a trabajar (Fig. N° 2).

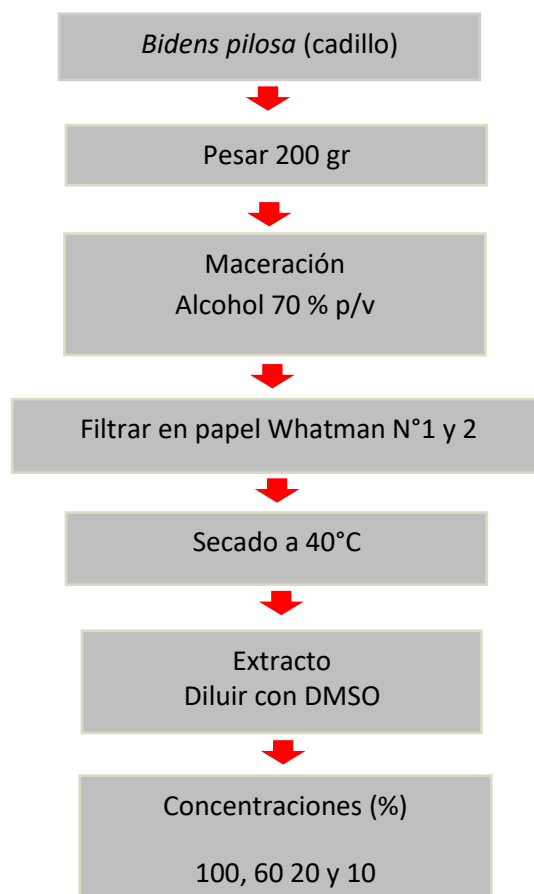


Fig. N° 2: Preparación del extracto alcohólico de hojas de *Bidens pilosa* L (Cadillo)

Fuente: Elaboración propia 2020.

- **Ensayo microbiológico**

La evaluación de la actividad antimicrobiana se llevó a cabo en el laboratorio microbiológico BIOEN LAB S.A.C., para esta evaluación se utilizó el método de difusión en agar con disco según Kirby Bauer, el ensayo para cada dilución se hizo por triplicado. (6, 30)

La preparación del inóculo fue comparada con la escala turbidimétrica de McFarland 0.5, la cual es aceptada universalmente para este tipo de ensayo.

Para la realización de estos análisis se trabajó con cepas estándar ATCC (American Type Culture Collection) de dos especies bacterianas relacionadas con las Enfermedades de Transmisión Alimentaria (ETAs): *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Salmonella entérica* sv *Enteritidis* ATCC 13076

- **Activación de cepas bacterianas:** Las cepas tipificadas ATCC se resuspendieron según indicaciones del fabricante y se procedió al sembrado en el medio de cultivo que el fabricante sugiere, llevando a incubación a 35°C +/- 1 por 24 horas. Una vez que transcurrió el tiempo se seleccionó 3 a 5 colonias con asa de Kohl y se transfirió a un tubo de ensayo con 5 ml de caldo Soya Trypticase (TSA) con tapa rosca, el cual también se incubó a 35°C +/- 1 hasta que alcanzó la turbidez de 0.5 de la escala de Mc Farland, obteniéndose una suspensión aproximadamente de 1×10^8 UFC/ml.

- **Preparación de concentraciones:**

El extracto fue resuspendido en DMSO, obteniéndose una solución madre (100%); y a partir de la cual se preparó las diluciones de 60 %, 20 % y 10%, necesarias para el desarrollo de la investigación.

- **Inoculación de las placas:** Una vez que la suspensión bacteriana alcanzó la turbidez de 0,5 Mac Farland, se inoculó sobre la superficie de placas de Petri que contenían el medio de cultivo agar Plate Count (APC); para lo cual se utilizó un hisopo estéril, el que fue embebido con la suspensión bacteriana varias veces y presionándolo firmemente sobre la pared interior del tubo por encima del nivel de líquido para remover el exceso de inóculo y poder estriarlo sobre el agar en tres direcciones para asegurar una distribución uniforme del inóculo.

- **Aplicación de los discos:** Se esterilizaron discos de papel filtro (Whatman) N° 3, de 6mm de diámetro en autoclave a 120°C por 15 minutos. Sobre los medios de cultivo conteniendo el inóculo bacteriano, con ayuda de una pinza se colocaron de forma equidistante 3 discos impregnados con las respectivas concentraciones del extracto, se dejó reposar por 5 minutos para llevar a incubación. Así mismo se embebieron discos con el control negativo que fue el dimetilsulfóxido (DMSO).
- **Incubación:** Las placas fueron incubadas por un período de 24 horas a una temperatura de 35°C +/- 1.
- **Medición de diámetro de la zona de inhibición sobre el crecimiento bacteriano:** Transcurrido el periodo de incubación de 24 horas, cada placa se examinó y se midió el diámetro de cada zona libre de crecimiento bacteriano mediante el instrumento vernier, expresándose en milímetros. Figura N°3.

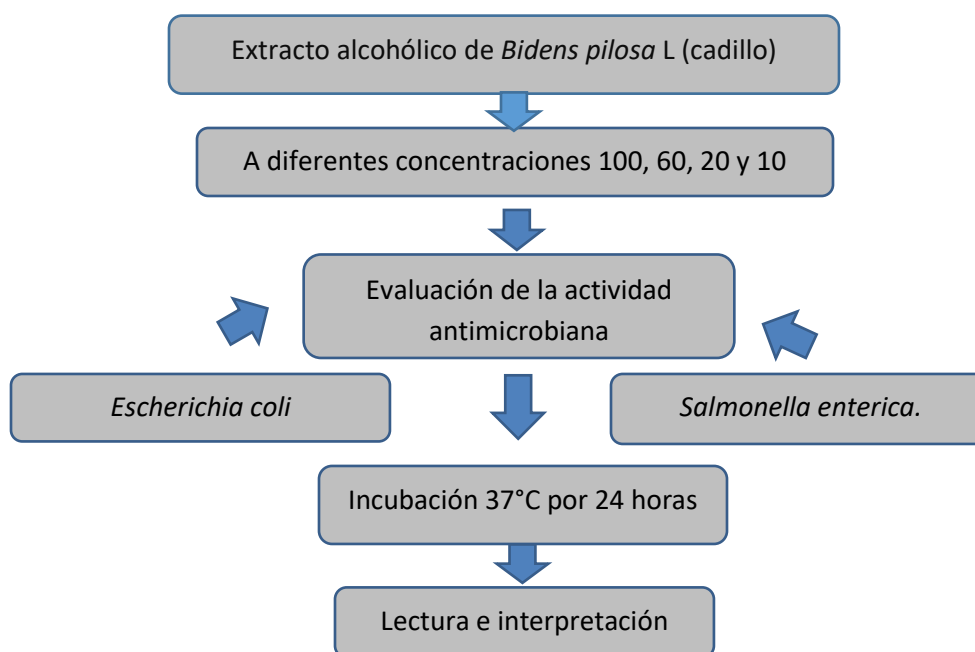


Figura N°3. Ensayos microbiológicos del extracto alcohólico de *Bidens pilosa* L (cadillo).

Fuente: Elaboración propia 2020.

2.6 Métodos de análisis estadístico

La actividad antibacteriana se evaluó a través del método de difusión en agar, con discos impregnados a las diferentes concentraciones del extracto. El diámetro de cada disco fue de 6mm; por lo tanto, las muestras con resultados negativos fueron consignadas con un valor de cero. Es por ello que no se consignaron los métodos de análisis estadísticos.

2.7 Aspectos éticos

La presente investigación se ha enfocado en evitar la contaminación bacteriana, para ello se utilizaron los medios obligatorios para no perjudicar a las personas que trabajan y transitan en los ambientes. Se utilizaron las medidas de protección específicas de bioseguridad e indumentaria correspondiente durante toda la ejecución de la investigación teniendo en cuenta que se trabajó con cepas de ATCC de *Escherichia coli* y *Salmonella sp.*, sobre placas con agar Plate Count, además, se realizaron controles internos ambientales en todo el proceso experimental. Al final se respetaron los resultados encontrados durante la ejecución de esta investigación

III. RESULTADOS

A continuación, se presentan los datos obtenidos sobre la actividad antibacteriana del extracto alcohólico de hojas de *Bidens pilosa* L (cadillo) a concentraciones de 100%, 60%, 20% y 10% frente a *Escherichia coli* ATCC 25922 *Salmonella enterica* sv Enteritidis ATCC 13076.

La actividad antibacteriana se evaluó a través del método de difusión en agar, con discos impregnados a las diferentes concentraciones del extracto. El diámetro de cada disco fue de 6mm; por lo tanto, las muestras con resultados negativos fueron consignadas con un valor de cero.

Tabla N° 5

Evaluación de la actividad antibacteriana del extracto alcohólico de hojas de *Bidens pilosa* L (cadillo) a concentraciones de 100%, 60%, 20% y 10% frente a *Escherichia coli* ATCC 25922

CEPA	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922			
	Halos de inhibición (mm)			
	N			X
	1	2	3	Promedio
100%	0	0	0	0
60%	0	0	0	0
20%	0	0	0	0
10%	0	0	0	0

Fuente: Elaboración Propia.

En la tabla N° 5 se visualiza que el extracto alcohólico de hojas de *Bidens pilosa* L (cadillo) a concentraciones de 100%, 60%, 20% y 10% frente a *Escherichia coli* ATCC 25922 no ejerce actividad antibacteriana

Tabla N° 6

Evaluación de la actividad antibacteriana del extracto alcohólico de hojas de *Bidens pilosa* L (cadillo) a concentraciones de 100%, 60%, 20% y 10% frente a *Salmonella enterica* sv Enteritidis ATCC 13076.

CEPA	<i>Salmonella entérica sv enteritidis</i> ATCC 13076			
Concentración del extracto (%)	Halos de inhibición (mm)			
	N			X
	1	2	3	Promedio
100%	0	0	0	0
80%	0	0	0	0
40%	0	0	0	0
20%	0	0	0	0

Fuente: Elaboración Propia.

En la tabla N° 6 se visualiza que el extracto alcohólico de hojas de *Bidens pilosa* L (cadillo) a concentraciones de 100%, 60%, 20% y 10% frente a *Salmonella entérica sv enteritidis* ATCC 13076 no ejerce actividad antibacteriana

IV. DISCUSIÓN

4.1 Discusión de resultados

Frente a la velocidad con que las bacterias han logrado desarrollar resistencia a los fármacos tradicionales; muchos investigadores han enfocado su atención al desarrollo de experimentos con especies vegetales cuyas propiedades antimicrobianas han sido mencionadas de forma empírica por la cultura popular, puesto que existe la necesidad de generar nuevas alternativas eficaces para el control de las infecciones bacterianas.

Las especies vegetales constituyen una valiosa fuente de sustancias activas, o metabolitos, muchos de los cuales poseen propiedades antimicrobianas, motivo por lo cual la presente investigación considero evaluar la actividad antibacteriana del extracto alcohólico de hojas de *Bidens pilosa* L. (cadillo) frente *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Salmonella enterica* sv *Enteritidis* ATCC 13076, cepas bacterianas de interés clínico e implicadas en enfermedades de transmisión alimentaria.

Los resultados encontrados respecto a *Escherichia coli* ATCC 25922, establecen que el extracto alcohólico de *Bidens pilosa* L. (cadillo) a las concentraciones de 100%, 60%, 20% y 10 % , no ejerce actividad antibacteriana, si bien estos resultados no fueron los que se esperaban, estos están respaldados por Chura S ⁽⁵⁾ y Cruz-Carrillo y Cols ⁽¹³⁾ quienes bajo las mismas condiciones trabajaron con el extracto alcohólico de *Bidens andicola* y *Bidens pilosa* respectivamente; por lo contrario también difieren con los de Reinsancho L. ⁽⁹⁾, Falowoa A y Cols. ⁽¹⁰⁾, Oladipupo A y Cols. ⁽¹¹⁾ y Moscardini J. y Cols. ⁽¹²⁾, quienes analizaron los extractos alcohólicos, hidroalcohólico, acuoso y aceites esenciales de *Bidens pilosa*, encontrando ejercen efecto inhibitorio sobre *Escherichia coli*, mostrando halos que oscilaban entre 12mm y 22,7 mm.

Respecto a *Salmonella enterica* sv *Enteritidis* ATCC 13076, el extracto alcohólico de *Bidens pilosa* L. (cadillo) a las concentraciones de 100%, 60%, 20% y 10 % , no ejerció actividad antibacteriana sobre esta cepa; si bien los resultados al igual que para

Escherichia coli, no fueron satisfactorios, estos difieren a los estudios realizados por Oladipupo A y Cols. ⁽¹¹⁾, quienes observaron que los extractos etanólica de las hojas de *Bidens pilosa* frente a diferentes especies de Salmonella forman halos que fluctuaban entre 11mm y 27,3mm_[RH29].

Basados en los datos obtenidos y los analizados de otras investigaciones, las discrepancias encontradas posiblemente estarían relacionadas al recurso vegetal, a la parte analizadas o a los metabolitos que poseen, tal como lo menciona Alonso E ⁽⁶⁾; puesto que los factores abióticos propios de los diferentes lugares de recolección, tales como el tipo de suelo, salinidad, radiación solar, temperatura, clima, agua, entre otros, influyen en la elaboración y proporción de los fitometabolitos; ya que de no presentarse las condiciones óptimas, ocasionaría que estos no se sintetizen apropiadamente, lo que influenciaría sobre la actividad antibacteriana; así mismo estas diferencias también podrían estar vinculadas al tipo de microorganismo o cepa en estudio., tal como lo menciona Reisancho L ⁽⁹⁾; Además Cruz-Carrillo y Cols. ⁽¹³⁾ en su estudio concluyen que *Bidens pilosa* L. ejercen mejor efecto sobre bacterias gram positivas, esto debido a que las gram negativas presentan compuestos anfipáticos que operan como bombas de expulsión de diversas sustancias, por lo cual, el antibacteriano es expulsado de manera inmediata o a la posibilidad que el metabolito no alcance el sitio blanco de acción o bien la estructura de las porinas impida el paso del principio activo al interior de célula bacteriana, no obstante para otros investigadores es discrepante. Y aunque la presente investigación no presento como objetivo identificar los metabolitos presentes en *Bidens pilosa*, estudios como las de Oladipupo A y Cols. ⁽¹¹⁾ y Moscardini J y Cols. ⁽¹²⁾ identifican la presencia de alcaloides, glucosidos, saponinas, esteroides, terpenos, flavones, flavonoides y taninos; resultado similar al de Chura S ⁽⁵⁾ en *Bidens andicola*, quien además junto a Cruz-Carrillo y Cols. ⁽¹³⁾, reportan que esta especie y *Bidens pilosa*, respectivamente, ejercen actividad antimicrobiana sobre bacterias gram positivas; esto presumiblemente, tal como los menciona Alonso E ⁽⁶⁾ estaría relacionado a los taninos y flavonoides ya que por su naturaleza química poseen grupos hidroxilo que

penetran su membrana celular bacteriana , combinándose y precipitando sus proteínas protoplasmáticas.

4.2 Conclusiones

- El extracto alcohólico de hojas de *Bidens pilosa* L. (cadillo) no presenta actividad antibacteriana frente a las bacterias tipificadas del estudio.
- El extracto alcohólico de hojas de *Bidens pilosa* L. (cadillo) a las concentraciones de 100%, 60%, 20% y 10% no presenta actividad antibacteriana frente *Escherichia coli* ATCC 25922.
- El extracto alcohólico de hojas de *Bidens pilosa* L. (cadillo) a las concentraciones de 100%, 60%, 20% y 10% no presenta actividad antibacteriana frente a *Salmonella entéricas* sv Enteritidis ATCC 13076.

4.3 Recomendaciones

- Continuar con nuevas investigaciones del extracto alcohólico de hojas de *Bidens pilosa* L. (cadillo) sobre diferentes cepas bacterianas
- Realizar estudios comparativos sobre la actividad antibacteriana de las diferentes partes de *Bidens pilosa* L. (cadillo).
- Realizar estudios comparativos sobre la actividad antibacteriana de *Bidens pilosa* L. (cadillo) procedentes de diversa zona geográfica y estación del año.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ministerio de salud (minsa). Boletín epidemiológico del Perú 2019. (citado 14 de diciembre 2019) vol. 28 (15) disponible en: <https://www.dge.gob.pe/portal/docs/vigilancia/boletines/2019/15.pdf>
2. Torres m, Matamoros m. Higiene en la manipulación y determinación de coliformes en alimentos que se expenden en el mercado de abastos de Huancavelica. (tesis para obtener el título profesional de licenciada en enfermería) Universidad nacional de Huancavelica – Perú 2019. (citado en 20 de diciembre 2019) disponible en: <http://repositorio.unh.edu.pe/bitstream/handle/UNH/2908/TESIS-ENFERMER%C3%8DA-2019-TORRES%20TORRES%20Y%20MATAMOROS%20HUAYLLANI.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
3. Pajuelo m. Más de la mitad de peruanos se automedican 2019. (citado 14 de diciembre 2019) disponible en: <https://conexionvida.net.pe/2019/05/13/automedicacion/>
4. Toribio m, oriani d, toso r, tortone c, fernández y. *Stapylococcus aureus* sensible a extractos metanólicos obtenido de plantas nativas de la provincia de la pampa, argentina. Ciencia veterinaria. 2009;11(1):14-8.
5. Cáceres n. Evaluación del efecto antibacteriano “in vitro” del extracto etanólico del mishico (*Bidens andicola*) sobre *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. (tesis para obtener el título profesional de químico farmacéutico) universidad andina de juliaca – Perú, 2019. (citado en 13 de diciembre 2019) disponible en: <http://repositorio.uancv.edu.pe/handle/uancv/4053>
6. Alonso E. Efecto antibacteriano in vitro del extracto acuoso de hojas de *Bidens pilosa* (Cadillo) frente a *Staphylococcus aureus*. Tesis para optar el título profesional de químico farmacéutico en la Universidad Católica los Ángeles – Chimbote. Perú. 2019
http://repositorio.uladech.edu.pe/bitstream/handle/123456789/11352/BIDENS_FLAVONOIDES_ALONSO_RAMOS_EBER_GERARDO.pdf?sequence=1&isAllowed=y

7. Carrión g. Efecto inhibitor del extracto etanólico de *Bidens pilosa* (amor seco) en comparación al colgate plax® y gluconato de clorhexidina al 0,12% sobre la cepa de *Streptococcus mutans*. Estudio in vitro. Lima. (tesis para optar el título de cirujano dentista) universidad privada Norbert Wiener 2015. (citado en 13 de diciembre 2019) disponible en: <file:///c:/users/user/downloads/carri%c3%93n%20reyes,%20gueraldin.pdf>
8. Rodríguez m., gamarra o. Y perez f. Evaluación fitoquímica y antibacteriana de *Bidens andicola hbk* (cadillo), *Alternanthera philoxeroides* (c. Mart) Griseb. (lancetilla) y *Celosia sp.* Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas – Perú, 2011. (citado en 13 de diciembre 2019) disponible en: https://www.researchgate.net/publication/314212224_evaluacion_fitoquimica_y_antibacteriana_de_bidens_andicola_hbk_cadillo_alternanthera_philoxeroides_c_mart_griseb_lancetilla_y_celosia_sp_pashquete
9. **Reisancho L.** INFLUENCIA DEL MÉTODO DE EXTRACCIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE HOJAS DE AMOR SECO (*Bidens pilosa* L.) EN LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA. Tesis para la obtención del Título de Química Farmacéutica de la Universidad Central del Ecuador. **2019**
<http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/18659/1/T-UCE-0008-CQU-126.pdf>
10. Falowo a., Muchenje v., Hugob c. And Charimbab g. Actividad antimicrobiana in vitro de *Bidens pilosa* y *Moringa oleífera* y sus efectos sobre la calidad de la carne molida durante el almacenamiento en frío (traducido) departamento de ciencia de ganado y pastos, facultad de ciencias y agricultura, Universidad de Fort Hare, Sudáfrica, 2019. (citado en 13 de diciembre 2019) disponible en: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/19476337.2016.1162847>
11. Oladipupo A. Actividad antibacteriana in vitro del extracto acuoso de *Bidens pilosa* L (Asteraceae) procedentes de Nigeria. Investigación realizada por el Departamento de Química de la Universidad Estatal de Lagos. Nigeria. 2015. (Citado en 13 de diciembre 2019) Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/277326990_In_vitro_Antibacterial_Activity_of_Aqueous_Extracts_of_Bidens_pilosa_L_Asteraceae_from_Nigeria

12. Cruz-carrillo a., Rodríguez n., Rodríguez c. "Evaluación in vitro del efecto antibacteriano de los extractos de *Bidens pilosa*, *Lantana camara*, *Schinus molle* y *Silybum marianum*. Revista u.d.c.a Actualidad & Divulgación Científica Bogotá 2010. (citado en 13 de diciembre 2019) disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=s0123-42262010000200014
13. Escobar b. Amor seco (*Bidens pilosa*): ficha, características y usos 2010. [citado: 6 enero 2020]; disponible en: <http://archivo.infojardin.com/tema/amor-seco-bidens-pilosa-ficha-caracteristicas-y-usos.180952/>
14. Santamaría c. Martín a. Astorga f. Extractos vegetales aplicación para la reducción del estrés europeo natural additives nutri new 2015. ([citado: 6 enero 2020]; disponible en: <https://nutricionanimal.info/download/0315-ena-web.pdf>
15. Análisis químico de plantas aromáticas y medicinales [en línea]. Uso industrial de plantas aromáticas y medicinales 2010 [citado: 6 enero 2020]; disponible: <http://ocw.upm.es/ingenieria-agroforestal/uso-industrial-de-plantas-aromaticas-y-medicinales/contenidos/material-de-clase/tema12.pdf>
16. Enfermedades transmitidas por alimentos – eta. [en línea] [citado: 6 enero 2020]; disponible en: <http://www.saludcapital.gov.co/sitios/vigilanciasaludpublica/protocolos%20de%20vigilancia%20en%20salud%20publica/enfermedades%20transmitidas%20por%20alimentos.pdf>
17. Enfermedades transmitidas por alimentos. [en línea] [citado: 6 enero 2020]; disponible en: <http://www.anmat.gov.ar/alimentos/enfermedades%20transmitidas%20por%20alimentos.pdf>
18. Inocuidad de los alimentos. [en línea] 2017. [citado: 6 enero 2020]; disponible en: <http://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/food-safety>
19. Peligros biológicos. Inocuidad de alimentos. [en línea] 2016. Agosto [citado: 2020 enero 03]; disponible en: https://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=10838%3a2015-peligros-biologicos&catid=7678%3ahaccp&itemid=41432&lang=en
20. Organización mundial de la salud. *Escherichia coli* 2019. (citado 10 de diciembre 2019) disponible en: https://www.who.int/topics/escherichia_coli_infections/es/

21. Canet j. *Escherichia coli*: características, patogenicidad y prevención (i) 2016 (citado 16 de diciembre 2019) disponible en: <http://www.betelgeux.es/blog/2016/01/19/escherichia-coli-caracteristicas-patogenicidad-y-prevencion-i/>
22. Farfán a, Ariza s, Vargas f. Y Vargas I. Mecanismos de virulencia de *Escherichia coli* enteropatógena. Revista chilena de infectología [en línea]. Agosto 2016, n 4. [citado: 2018 diciembre 1]; [13pp.] Url disponible en: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=s0716-10182016000400009#f6
23. Carbó r. Investigación de *Salmonella spp* en alimentos mediante el método tradicional iso 6579 y dos métodos inmunoenzimáticos [tesis para optar el grado de ingeniero agrónomo] españa: Universidad Politécnica de Cataluña; 2015 [citado: 12 noviembre 2019]. Disponible en: <https://upcommons.upc.edu/bitstream/handle/2099.1/26111/memoria.pdf>
24. Jurado R., Arenas C., Doblaz A., Rivero A. y Torres J. Fiebre tifoidea y otras infecciones por salmonellas [en línea] 2010. Octubre [citado: 12 noviembre 2019]; (4): [5 pp.]. Disponible en: http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/pdf/tifoidea_otras_salmonellas_medicine201o0.pdf
25. García E., Hernández S., García P. Investigación en plantas de importancia médica [en línea] Barcelona: facultad de ciencias biológicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León; 201 6. [citado: 12 noviembre 2019] capítulo 3. Actividad antimicrobiana. Disponible en: <http://www.omniascience.com/monographs/index.php/monograficos/article/viewfile/334/247>
26. Guía técnica sobre criterios y procedimientos para el examen microbiológico de superficies en relación con alimentos y bebidas. [en línea] 2018. Noviembre [citado: 2019 noviembre 01]; disponible en: http://www.digesa.minsa.gob.pe/norma_consulta/proy_microbiologia.htm.

27. mayoclinic.org/es-es/diseases-conditions/salmonella/symptoms-causes/syc-20355329#:~:text=En%20general%2C%20las%20personas%20que,pocos%20días%20sin%20tratamiento%20específico.

28. Taroco R, Seija V, Vignoli R. Métodos de estudio de la sensibilidad a los antibiótica. Temas de bacteriología y virología médica. Pág. 668.
29. Martínez, I. Guía de antisépticos y desinfectantes. Madrid: instituto nacional de gestión sanitaria; 2013. [citado: 2019 noviembre 01]; disponible en: http://www.ingesa.msssi.gob.es/estaestudios/docum_publica/internet/pdf/guía_antisepticos_desinfectantes.pdf.
30. Romani L. Actividad antibacteriana de compuestos fenólicos aislados de la semilla de *persea americana mill*. “palta jass” frente a escherichia coli. atcc 35218. (tesis para obtener el título profesional de químico farmacéutico) Universidad nacional de san Cristóbal de Huamanga de Ayacucho – Perú, 2016. (citado en el mes de setiembre 2016) disponible en: http://repositorio.unsch.edu.pe/bitstream/handle/UNSCH/2331/TESIS%20Far463_Rom.pdf?sequence=1&isAllowed=y
31. Montero M, Vayas L, Avilés D, Pazmiño P, Erazo V. “Evaluación de dos métodos para medir la sensibilidad de inhibición de crecimiento de la cepa certificada de *Staphylococcus aureus* subsp. *Aureus*”. Ecuador. 2018 (citado el 4 de julio 2018) disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rivep/v29n4/a52v29n4.pdf>
32. Sánchez I. Preparación de extractos vegetales ii: macerados acuosos 2015 [citado: 2019 noviembre 01]; disponible en: <https://www.aquiconmiscosas.es/preparacion-de-extractos-vegetales-ii-macerados-acuosos/>
33. Farmacodinamia y conceptos generales [en línea] 2009 [citado: 2019 noviembre 01]; disponible en: <http://files.uladech.edu.pe/docente/40205205/informacion%20complementaria/farmacodinamia/farmacodinamia%20uladech.pdf>
34. Ryman d. Aromaterapia: enciclopedia de las plantas aromáticas y de sus aceites esenciales. [en línea] 2017. [citado: 2019 noviembre 01]; disponible en:

<https://books.google.com.pe/books?id=ibldh49nsscc&pg=pa23&dq=definicion+de+extraccion+de+aceites%2b2017&hl=en&sa=x&ved=0ahukewjz1ls89trbahuqqkklkxayhaqq6aeikzaa#v=onepage&q=definicion%20de%20extraccion%20de%20aceites%2b2017&f=false>

35. Castillo e., martínez I. Manual de fitoterapia. 2da ed. España: elsevier; 2016.
36. Puente E., Torres S. Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de las raíces de *Zingiber officinale roscoe* (kion) y *cúrcuma longa l.* (palillo) frente a cepas de *Staphylococcus aureus* [tesis para optar el título profesional de químico farmacéutico y bioquímico]. Lima: Universidad Inca Garcilaso de la Vega; 2018 [citado 22 noviembre 2019]. Disponibles en: http://repositorio.uigv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.11818/2859/tesis_puente%20contreras%20ema%20edith%20-%20torres%20casa
37. Método de determinación de sensibilidad antimicrobiana por difusión 2012 [citado: 12 noviembre 2019] disponible en: <http://antimicrobianos.com.ar/atb/wp-content/uploads/2012/11/02>
38. Desinfectantes utilizados en la industria alimentaria: características, modo de actuación y aspectos que inciden en su eficacia. [en línea] [citado: 2019 enero 03]; disponible en: http://www.betelgeux.Es/images/files/documentos/articulo_boletin_desinfectantes_y_modo_de_accion_en_iaa.pdf
39. Aoac método oficial 991.14 [en línea] 2016. [citado: 2019 noviembre 20]; disponible en: http://www.edgeanalytical.com/wp-content/uploads/food_aoac-991.14.pdf
40. Técnica de análisis microbiológico [en línea] 2016. [citado: 16 de diciembre 2019]; disponible en: <https://www.parlox.net/mayta/coliformes-totales-y-e-coli/Oliformes-totales-y-e-coli/>.

ANEXOS

ANEXO A

OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES.

VARIABLE INDEPENDIENTE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DIMENSIONES	INDICADORES (%)	UNIDAD DE MEDIDA/PUNTO DE CORTE
Extracto alcohólico de <i>Bidens pilosa</i> L (cadillo).	Solución líquida de <i>Bidens pilosa</i> L (cadillo) obtenida por maceración.	Concentraciones (mg/ml).	100 60 20 10	Porcentaje
VARIABLE DEPENDIENTE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DIMENSIONES	INDICADORES (%)	UNIDAD DE MEDIDA/PUNTO DE CORTE
Actividad antibacteriana.	Capacidad de inhibir el crecimiento microbiano.	Halo de inhibición.	(mm).	≥1

ANEXO B

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Evaluación de la Actividad Antibacteriana del extracto alcohólico de *Bidens pilosa* L (cadillo) frente a bacterias tipificadas.

CEPA	Halos de inhibición (mm)			
	N			X
	1	2	3	Promedio
100%				
60%				
20%				
10%				

Fuente: Elaboración Propia. 2020.

n: Número de ensayos microbiológicos.

x: Promedio.

ANEXO C

CERTIFICACIÓN TAXONÓMICA



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



"Año de la lucha contra la corrupción y la impunidad"

CONSTANCIA N° 434-USM-2019

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

La muestra (planta completa) recibida de **Celida Marili Cieza Diaz** y **Henry Daniel Ucancial Cieza**, estudiantes de la universidad María Auxiliadora, a sido estudiada y clasificada como: ***Bidens pilosa* L.** y tiene la siguiente posición taxonómica, según el sistema de clasificación de croquist (1988).

DIVISION: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

SUBCLASE: ASTERIDAE

ORDEN: ASTERALES

FAMILIA: ASTERACEAE

GENERO: *Bidens*

ESPECIE: *Bidens pilosa* L.

Nombre vulgar: "cadillo" "amor seco"
Determinado por Mag. Hamilton Beltrán Santiago

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para los fines que estime conveniente.

Lima, 09 de diciembre de 2019




Dra. Joaquina Albán Castillo
JEFA (e) DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)

JAC/ddb

ANEXO D

CONSTANCIA DE PARTICIPACIÓN EN EL PROCESO DE PREPARACIÓN DEL EXTRACTO ALCOHÓLICO DE HOJAS DE *Bidens pilosa* L (CADILLO)



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



Laboratorio de Anatomía y Farmacognosia Vegetal

El suscrito Magister Domingo Iparraguirre León, Jefe del Laboratorio de Anatomía y Farmacognosia Vegetal de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos deja constancia que los Bachilleres **CELIDA MARILI CIEZA DIAZ** y **HENRY DANIEL UCANCIAL CIEZA**, identificados con DNI: 71069902 y 42645447 respectivamente, egresados de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Facultad de Medicina Humana y Ciencias de la Salud, de la Universidad María Auxiliadora, han realizado en nuestras instalaciones la preparación del extracto alcohólico, requerido para su tesis elaborado a partir de las hojas de "Cadillo". Mediante el proceso de maceración. Según método CYTED (1995).

Se expide el presente documento a solicitud de la parte interesada, para los fines que estime conveniente.

Lima, 27 de Enero 2020.

Mg. Domingo Iparraguirre León
Profesor Principal- Departamento
Académico de Botánica-FCB-UNMSM

ANEXO E

CONSTANCIA DE PARTICIPACIÓN EN EL PROCESO DE EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DEL DEL EXTRACTO ALCOHÓLICO DE HOJAS DE *Bidens pilosa* L (CADILLO) FRENTE A BACTERIAS TIPIFICADAS



BIOEN LAB S.A.C.

Pág. 1 de 3

ENSAYOS MICROBIOLÓGICOS INFORME N° 95-2020

1. IDENTIFICACIÓN DEL SOLICITANTE

Nombres: Celida Marilí Cieza Diaz
Henry Daniel Ucancial Cieza
DNI: 71069902
42645447
Universidad: María Auxiliadora
Facultad: Medicina Humana y Ciencias de la Salud
Escuela Profesional: Farmacia y Bioquímica

2. IDENTIFICACIÓN DE LA MUESTRA

Ingredientes activos: Extracto alcohólico de hojas de *Bidens pilosa* L (Cadillo)
Diluyente: Dimetilsulfóxido (DMSO)
Cantidad recibida: 01 frasco de vidrio con 32,91 gramos de muestra
Cepas utilizadas para enfrentamiento:
Escherichia coli ATCC 25922
Salmonella enterica sv Enteritidis ATCC 13076
Fecha de análisis: 30 de enero del 2020
Fecha de reporte: 31 de enero del 2020

3. MÉTODO DE ANÁLISIS:

Evaluación microbiológica *in vitro*. Método de difusión en agar por discos
3.1 Medio de cultivo: Agar Plate Count (APC)
3.2 Inóculo: 0,5 Mc Farland (1×10^8 UFC/mL)
3.3 Discos: Papel filtro Whatman N°3, de 6 mm de diámetro
3.4 Repeticiones: Tres
3.3 Tiempo de incubación: 24 ± 2 horas a $35 \pm 1^\circ\text{C}$, en aerobiosis.

4. DATOS DEL ENSAYO

4.1. Concentraciones de extracto alcohólico de hojas de *Bidens pilosa* L (Cadillo). Según protocolo recibido, volumen final 1000 μL .

CONCENTRACION (%)	EXTRACTO ALCOHÓLICO (μL)	DILUYENTE (μL)
100	1000	0
60	600	400
20	200	800
10	100	900

Blgo. Néji Azabache V.
C.B.P 4891



BIOEN LAB S.A.C.

5. CONTROLES:

Muestra	Medio de cultivo	Resultado
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	APC	Crecimiento
<i>Salmonella enterica</i> sv Enteritidis ATCC 13076	APC	Crecimiento
Sin sembrar (control del medio)	APC	No hubo crecimiento
Discos con DMSO	APC + <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	No hubo halo
Discos con DMSO	APC + <i>Salmonella enterica</i> sv Enteritidis ATCC 13076	No hubo halo

6. RESULTADOS

6.1. Evaluación microbiológica *in vitro* de extracto alcohólico de *Bidens pilosa* L (Cadillo).
Método difusión en agar por discos. Halos de inhibición en milímetros (mm).

<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	100 %	60 %	20 %	10 %
n				
1	0,0	0,0	0,0	0,0
2	0,0	0,0	0,0	0,0
3	0,0	0,0	0,0	0,0

n= número de repeticiones.


Bigo. Néli Azabache V.
C.B.P 4001



BIOEN LAB S.A.C.

<i>Salmonella enterica</i> sv Enteritidis ATCC 13076	100 %	60 %	20 %	10 %
n				
1	0,0	0,0	0,0	0,0
2	0,0	0,0	0,0	0,0
3	0,0	0,0	0,0	0,0

n= número de repeticiones.

Método utilizado: Kirby Bauer y col. modificado.

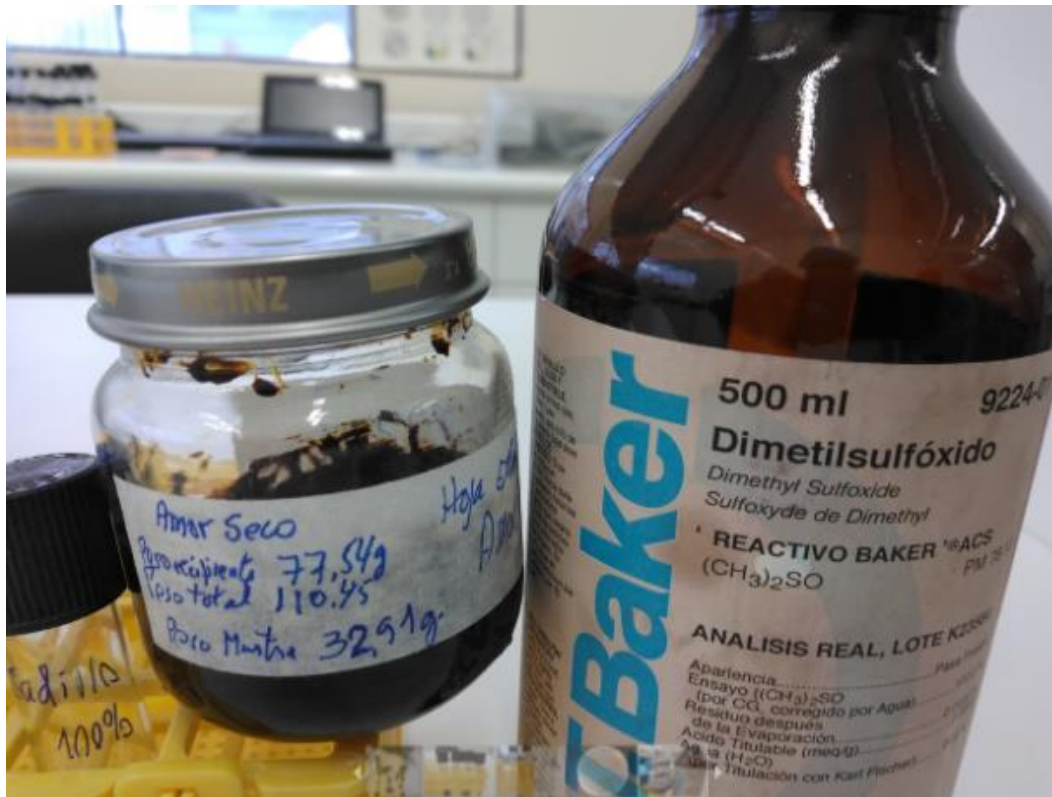
Blgo. Néji Azabache V.
C.B.P 4001

ANEXO F

PREPARACIÓN DEL EXTRACTO ALCOHÓLICO DE *Bidens pilosa* L (CADILLO)



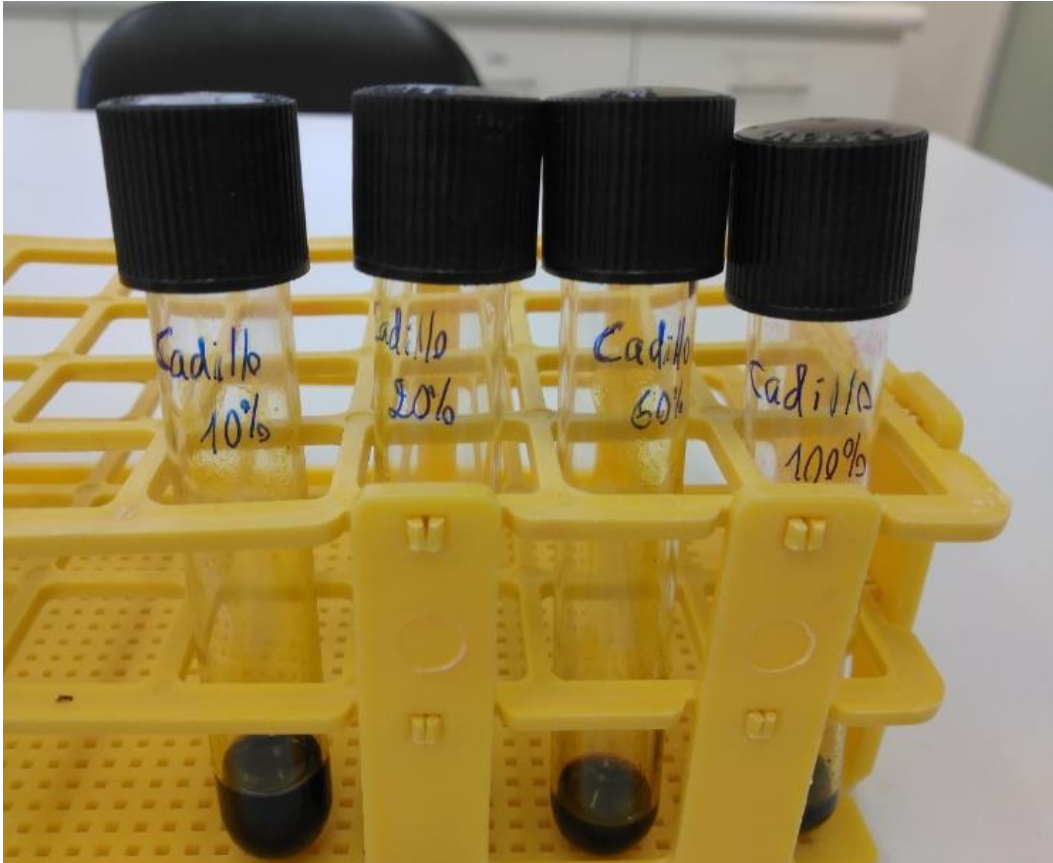
ANEXO G
EXTRACTO ALCOHÓLICO *Bidens pilosa* L (CADILLO)



Fuente; Elaboración propia

ANEXO H

DILUCIONES DEL EXTRACTO ALCOHÓLICO *Bidens pilosa* L (CADILLO)



Fuente; Elaboración propia

ANEXO I

CERTIFICADO DE CALIDAD PARA *E. coli* ATCC 25922

thermoscientific

Certificate of Quality

Product Name: E. coli ATCC 25922 PK/5
Lot Number: 512247

Product Number: R4607050
Expiration Date: 2020-10-06
(YY-MM-DD)

This product has been manufactured, processed and packaged in accordance with Quality Systems Regulation, 21 CFR Part 820. Representative samples were tested per Remel Inc., a part of Thermo Fisher Scientific Quality Control specifications and were found to meet performance criteria for this product.

Purity:

Standardized aliquots of the rehydrated product are inoculated onto nonselective media and examined for pure growth following the appropriate incubation. Selective and Differential media are also tested where applicable.

Viability And Quantification:

100% organism is recovered from the preserved state within the required time frame and at an acceptable level. Passage number is stated as the current preserved state.

Macroscopic And Microscopic Morphology:

Colony morphology is consistent with documented referenced description. Traditional staining is performed.

Biochemical Analysis:

Organism exhibits characteristic biochemical and/or enzymatic reactions. Automated and/or conventional testing was performed and results were within established limits. Antimicrobial testing performed where applicable. Results within expected ranges.

CFU/loop: >10⁶(4)

Passage: 3

Gram Reaction: Gram Negative Rod

Biochemical Profile: API 20E

Appearance: Preserved Gel Matrix suspended in inoculating loop

pH: N/A

S

Aime Williams

Quality Assurance Supervisor

Fuente: Thermoscientific

ANEXO J

CERTIFICADO DE CALIDAD PARA *Salmonella enterica* sv Enteritidis ATCC 13076

thermoscientific

Certificate of Quality

Product Name: *S. enterica* sv Enteritidis ATCC13076 PK/5
Lot Number: 486725

Product Number: R4608200
Expiration Date: 2020-08-20
(YYYY-MM-DD)

This product has been manufactured, processed and packaged in accordance with Quality Systems Regulation, 21 CFR Part 820. Representative samples were tested per Remel Inc., a part of Thermo Fisher Scientific Quality Control specifications and were found to meet performance criteria for this product.

Purity:

Standardized aliquots of the rehydrated product are inoculated onto nonselective media and examined for pure growth following the appropriate incubation. Selective and Differential media are also tested where applicable.

Viability And Quantification:

1 organism is recovered from the preserved state within the required time frame and at an acceptable level. Passage number is stated as the current preserved state.

Macroscopic And Microscopic Morphology:

Colony morphology is consistent with documented referenced description. Traditional staining is performed.

Biochemical Analysis:

Organism exhibits characteristic biochemical and/or enzymatic reactions. Automated and/or conventional testing was performed and results were within established limits. Antimicrobial testing performed where applicable. Results within expected ranges.

CFU/loop: >10⁴

Gram Reaction: Gram Negative Rod

Passage: 3

Biochemical Profile: Vitek 2C GN & Antisera Grouping

Appearance: Preserved Gel Matrix suspended in inoculating loop

pH: N/A



Signed

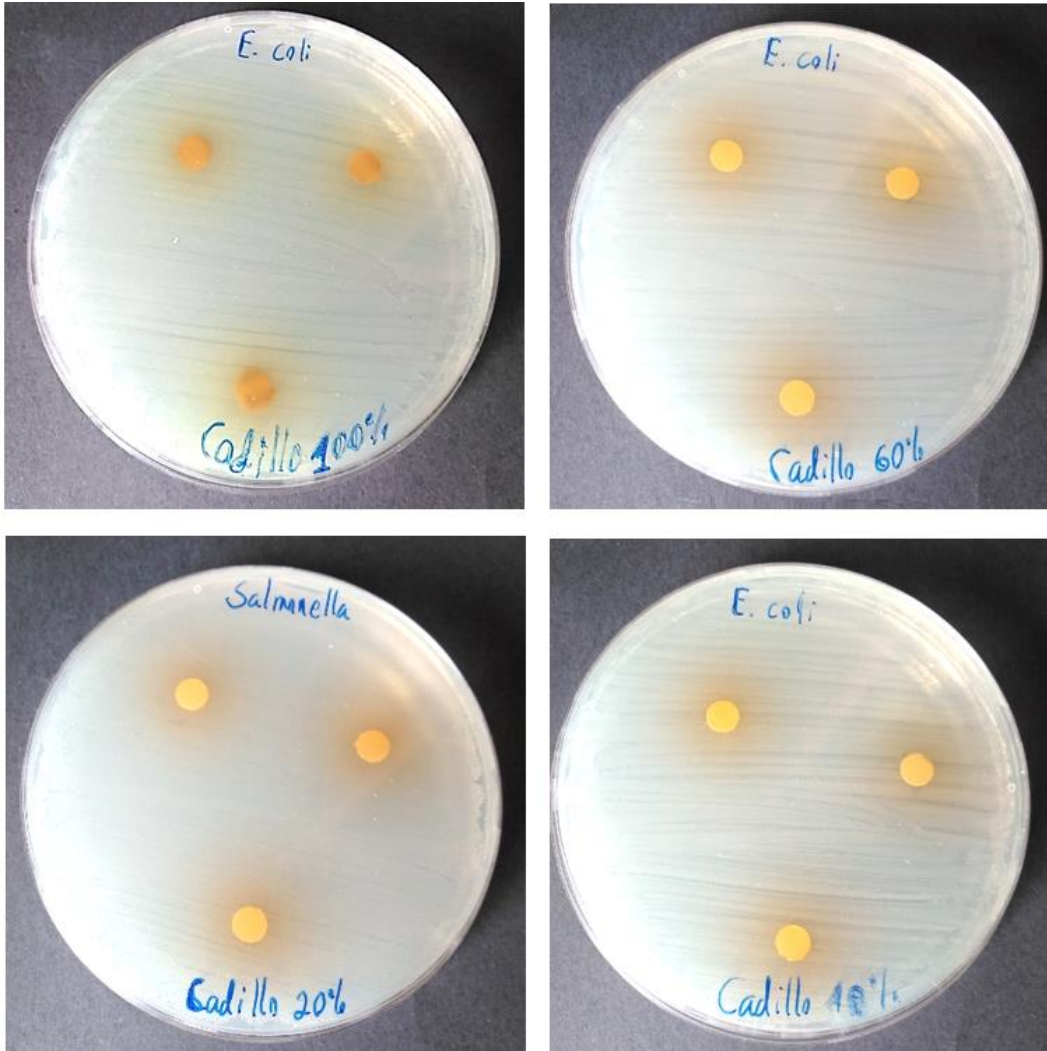
Aime Williams

Quality Assurance Supervisor

Fuente: Thermoscientific

ANEXO K

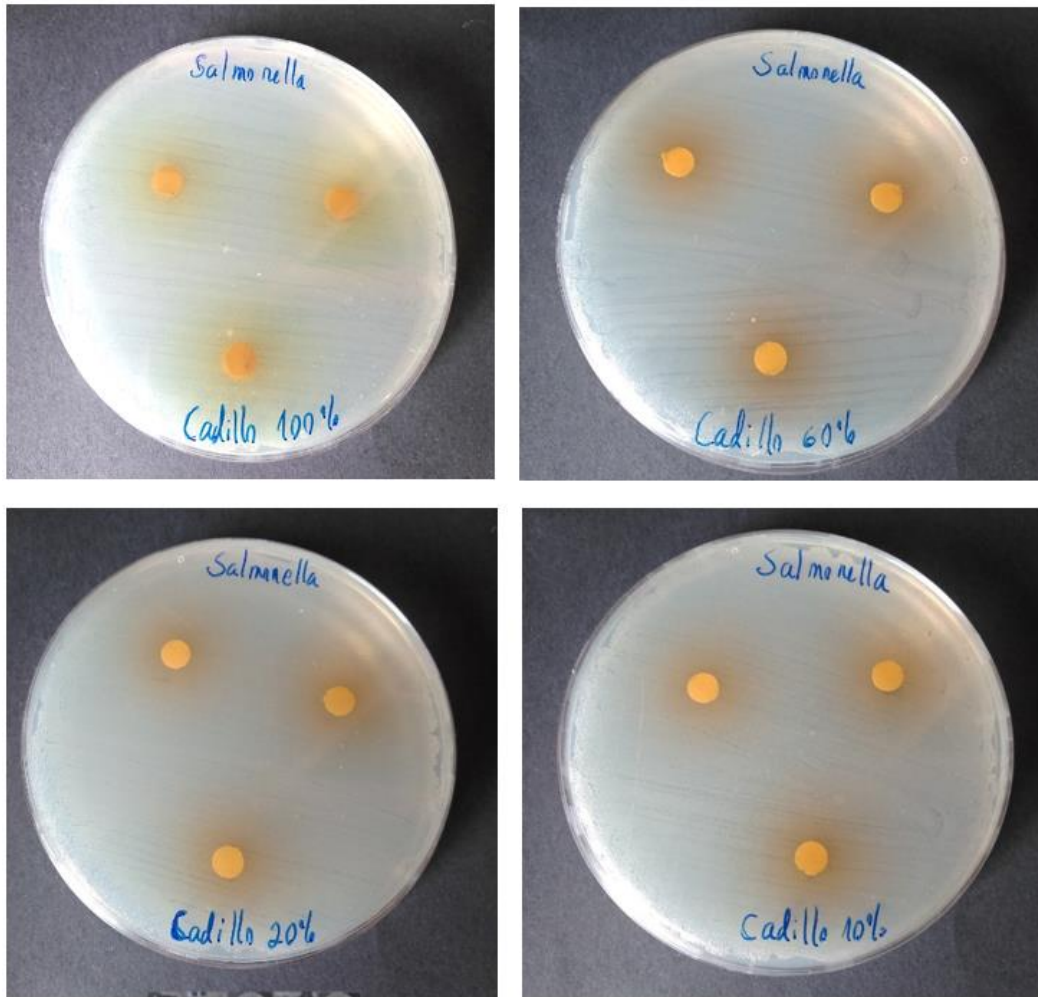
ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO ALCOHÓLICO *Bidens pilosa* L (CADILLO) SOBRE *Escherichia coli* ATCC 25922



Fuente: Elaboracion propia.

ANEXO L

ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO ALCOHÓLICO *Bidens pilosa* L (CADILLO) SOBRE *Salmonella* entérica sv Enteritidis ATCC 13076



Fuente: Elaboración propia