

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

ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA IN VITRO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE Datura stramonium (Chamico) Y Allium sativum (Ajo) SOBRE Staphylococcus aureus

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE QUÍMICO FARMACÉUTICO

AUTORES:

BACH. REQUEJO RAMOS, MARIBEL CLARISA BACH. CALLAO RODRIGUEZ, JORGE LUIS

ASESOR:

MG. QF.HERNÁNDEZ GUERRA, REYNA EMPERATRIZ

LIMA – PERÚ 2021

DEDICATORIA

A mis padres Catalina y Fortunato por su fortaleza y valentía, para brindarme educación y ayudarme a alcanzar mis objetivos.

A mis sobrinos: Iván Kennet, Arhella, César, Mariana y Laura, quienes aún se forman como profesionales y tienen muchas metas que desean cumplir.

Maribel Clarisa Requejo Ramos

Il Dios Padre y a la Virgen María, quienes inspiraron mi espíritu en mi lucha para realizar y conseguir este logro, el más anhelado de mis deseos en lo personal y profesional.

H mis hijos, Evani Danielle y Jorge Sebastián, quienes con su apoyo y respaldo me motivaron para continuar con mis estudios, desde el fondo de mi alma y mi corazón, va para ellos este trabajo académico.

Jorge Quis Callao Rodríguez

AGRADECIMIENTO

A mis padres y hermanos que me apoyaron en cada momento, motivándome para lograr alcanzar este reto planteado de ser profesional y que ahora estoy culminando.

A Q.F. Martín Silva Romero por su apoyo incondicional compartiendo su conocimiento y experiencia para desarrollo de este trabajo de investigación.

Maribel Clarisa Requejo Ramos

A nuestra asesora de tesis de la Universidad María Auxiliadora, Mg. Q.F. Reyna Emperatriz Hernández Guerra, por haber compartido sus conocimientos en esta investigación.

H mi hermana QF Gricelda Alejandrina Callao Rodríguez, por el respaldo y el apoyo durante mi formaciónacadémica, los valores inculcados, hicieron realidad este momento tan ansiado de realizarme como persona y profesional.

Jorge Quis Callao Rodríguez

Índice General

| RESUMEN | viii |
|---|------|
| ABSTRACT | ix |
| I. INTRODUCCIÓN | 1 |
| II. MATERIALES Y MÉTODOS | 6 |
| 2.1 Enfoque y diseño de investigación | |
| 2.2 Población, muestra y muestreo | |
| 2.3 Variables de investigación | |
| 2.4 Técnica e instrumento de recolección de datos | |
| 2.5 Proceso de recolección de datos | |
| 2.7 Aspectos éticos | 11 |
| III. RESULTADOS | 12 |
| IV. DISCUSIÓN | 24 |
| 4.1. Discusión de resultados | |
| 4.2. Conclusiones | |
| 4.3. Recomendaciones | |
| REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 29 |
| ANEXOS | 32 |

Índice de Tablas

| Tabla 1: Diámetros en milímetros obtenidos de los halos de inhibición producidos po | r |
|---|---|
| los extractos etanólicos de Datura stramonium (Chamico) al 100%, 75% y 50% sobre | е |
| Staphylococcus aureus ATCC 259231 | 2 |
| Tabla 2: Estadística descriptiva obtenida del tamaño de los halos de inhibición | |
| producidos por los extractos etanólicos de Datura stramonium (Chamico) al 100%, | |
| 75% y 50% sobre Staphylococcus aureus ATCC 259231 | 3 |
| Tabla 3: Categorización de los halos de inhibición según el Aromatograma de | |
| sensibilidad de Duraffourd para el extracto etanólico de Datura stramonium | |
| (Chamico)1 | 3 |
| Tabla 4: Diámetros en milímetros obtenidos de los halos de inhibición producidos po | r |
| los extractos etanólicos de Allium sativum (Ajo) al 100%, 75% y 50% sobre | |
| Staphylococcus aureus ATCC 259231 | 5 |
| Tabla 5: Estadística descriptiva obtenida del tamaño de los halos de inhibición | |
| producidos por los extractos etanólicos de Allium sativum (Ajo) al 100%, 75% y 50% | ı |
| sobre Staphylococcus aureus ATCC 259231 | 6 |
| Tabla 6: Categorización de los halos de inhibición según el Aromatograma de | |
| sensibilidad de Duraffourd para el extracto etanólico de Allium sativum (Ajo)1 | 7 |
| Tabla 7: Prueba de Normalidad de Shapiro-Wilk1 | 8 |
| Tabla 8: Prueba de homogeneidad de varianzas (Levene)1 | 9 |
| Tabla 9: Prueba comparaciones múltiples entre grupos1 | 9 |
| Tabla 10: Prueba de Tukey realizada a los grupos de trabajo2 | 2 |

Índice de Figuras

| Figura 1: Gráfico de medias de los grupos de análisis | 23 |
|--|-----|
| Figura 2: Datura stramonium L. "Chamico" recolectado en el Centro poblado de | |
| Motupillo | 40 |
| Figura 3: Bulbos de "Ajo" recolectado en Fundo Santo Toribio San Carlos, Zaña, | |
| Chiclayo | 40 |
| Figura 4: Muestra de Chamico recolectada para identificación taxonómica | 41 |
| Figura 5: Secado de muestras vegetales | 41 |
| Figura 6: Extractos etanólicos de ajo y chamico | 42 |
| Figura 7: Activación de la cepa de Staphylococcus ATCC 25923 | 42 |
| Figura 8. Preparación del inóculo de trabajo a escala 0.5 Mc Farland | 42 |
| Figura 9. a) Preparación de discos con extractos b) Sembrado del inóculo en plac | cas |
| | 43 |
| Figura 10. Incubación de placas con Staphylococcus aureus | 43 |
| Figura 11 Lectura de datos | 44 |

Índice de Anexos

| Anexo A. Operacionalización de variables | .33 |
|---|-----|
| Anexo B. Recolección de datos | .34 |
| Anexo C. Clasificación taxonómíca de especie vegetal | .35 |
| Anexo D. Certificado de análisis de Staphylococcus aureus ATCC 25923 | .36 |
| Anexo E. Autorización escrita para la recolección de la muestra vegetal "ajo" | .38 |
| Anexo F. Autorización escrita para la recolección de la muestra vegetal "chamico" | .39 |
| Anexo G. Evidencias fotográficas del trabajo de campo | .40 |

RESUMEN

Objetivo: Demostrar la actividad antibacteriana in vitro del extracto etanólico de *Datura stramonium* "Chamico" y *Allium sativum* "Ajo" sobre *Staphylococcus aureus*.

Métodos:El método empleado para la preparación del extracto etanólico de *Datura* stramonium "Chamico" y *Allium sativum* "Ajo", se realizó mediante maceración con etanol y la actividad antibacteriana sobre *Staphylococcus aureus* se realizó empleando el método de difusión en disco o Kirby Bauer.

Resultados: El extracto etanólicode *Datura stramonium* "Chamico" y *Allium sativum* "Ajo", obtuvo halos de inhibición de 6,352mm, 6,273mm, 6,171mm para las concentraciones al 100%, 75% y 50% respectivamente; por otro lado, el extracto de etanólico de *Allium sativum* "Ajo" para las concentraciones de 100%, 75% y 50% obtuvieron halos de inhibición de *20,43 mm, 17,126 mm y 10,66 mm.* La prueba de Tukey no demostró diferencia significativa entre el control negativo y los extractos etanólicos de Chamico al 50%, 75% y 100%, sin embargo, los extractos etanólicos de *Allium sativum* "Ajo" de las mismas concentraciones si demostraron tener diferencia significativa.

Conclusiones:Se logró demostrar el efecto antibacteriano de *Allium sativum* "Ajo"sobre *Staphylococcus aureus*, pero *Datura stramonium* "Chamico"no demostró efecto antibacteriano.

Palabras claves: Datura stramonium, Allium sativum, Staphylococcus aureus, Extracto etanólico, Ajo, Chamico.

ABSTRACT

Objective: To demonstrate the in vitro antibacterial activity of the ethanolic extract of Datura stramonium "Chamico" and Allium sativum "Ajo" on Staphylococcus aureus.

Methods: The method used for the preparation of the ethanolic extract of Datura stramonium "Chamico" and Allium sativum "Garlic" was carried out by maceration with ethanol and the antibacterial activity on Staphylococcus aureus was carried out using the disk diffusion method or Kirby Bauer.

Results: The ethanolic extract of Datura stramonium "Chamico" and Allium sativum "Ajo", obtained inhibition halos of 6,352mm, 6,273mm, 6,171mm for the concentrations at 100%, 75% and 50% respectively; on the other hand, the ethanolic extract of Allium sativum "Ajo" for the concentrations of 100%, 75% and 50% obtained inhibition halos of 20.43 mm, 17.126 mm and 10.66 mm. The Tukey test did not show a significant difference between the negative control and the ethanolic extracts of Chamico at 50%, 75% and 100%, however, the ethanolic extracts of Allium sativum "Garlic" of the same concentrations did show a significant difference.

Conclusions: The antibacterial effect of Allium sativum "Ajo" was demonstrated on Staphylococcus aureus, but Datura stramonium "Chamico" did not demonstrate antibacterial effect.

Key words: Datura stramonium, Allium sativum, Staphylococcus aureus, Ethanolic extract, Garlic, Chamico.

I. INTRODUCCIÓN

La resistencia bacteriana es una situación que genera una reacción de alerta al sistema de salud a nivel mundialesto debido a que, el tratamiento farmacológico se hace ineficaz ante este comportamiento bacteriano, lo que motiva a tomar medidas inmediatas de prevención en todo el mundo¹.

Las infecciones por *Staphylococcus aureus* están dentro de la lista de los patógenos que generan mayor resistencia a los antibióticos según la Organización Mundial de la Salud (OMS) en el 2017, existiendo la necesidad de investigar nuevas alternativas o propuestas antibacterianas².

La OMS, informa que en Europa, en casi todos los países de este continente existe un alto porcentaje de resistencia a los antibióticos, habiéndose presentado en algunas regiones hasta un 60% de infecciones con cepas de *S. aureus* resistentes a meticilina³.

En la región de las Américas sucede un caso similar, con mayor implicancia en cuanto a la resistencia de las cepas de *S. aureus* en infecciones, llegando a presentarse hasta un 90% de resistencia a la metilicina, lo que indica que el tratamiento habitual con los antibióticos no funciona³.

En el Perú, García presentó un artículo donde encontró que el 50% de los *S. aureus* aislados de hemocultivos de varios hospitales presentaban resistencia a la meticilina, y que este tipo de infecciones tiene como factor común relación con los servicios de salud⁴.

En el departamento de Lambayeque un estudio realizado por Aguilar et al. mostro la prevalencia de cepas de *S. aureus* meticilino resistentes, en muestras tomadas de portadores de diferentes áreas del hospital⁵.

La resistencia bacteriana que provoca *S. aureus* se ha visto aumentada con el uso de antibióticos, esto ha ocasionado que las cepas muten y se hagan más fuertes, el uso indiscriminado de antibióticos está ocasionando cada día menos efectividad de los mismos y por consiguiente el difícil tratamiento de las infecciones.

El presente proyecto pretende colaborar en la búsqueda de tratamientos no farmacológicos que eviten la proliferación de cepas resistentes, utilizando como alternativas al tratamiento antibacteriano plantas medicinales.

La *Datura stramonium* "Chamico" es una planta anual, presenta un tallo herbáceo, ramificado y glabro o en algunos casos llevo de vellosidades. La planta florece en verano y puede alcanzar una altura de aproximadamente 1metro de altura⁶.Las propiedades medicamentosas de esta planta han sido aprovechadas por la medicina moderna para aliviar el dolor de cabeza y los vapores de la infusión de hojas se utilizan para aliviar el dolor del reumatismo y la gota. El humo de la hoja quemada se inhala para aliviar el asma y la bronquitis.⁷

Allium sativum, es una planta herbácea y perenne que presenta de 6 a 12 hojas de 15 a 60 cm de largo y con una floración de 25 a 80 cm de alto a partir de un solo bulbo subterráneo. Se cultiva anualmente⁸.

Investigaciones recientes también han indicado que el ajo reduce el metabolismo de la glucosa en los diabéticos, retrasa el desarrollo de la arteriosclerosis y disminuye el riesgo de más ataques cardíacos en pacientes con infarto de miocardio⁸.

El ajo tiene una larga historia de uso popular en una amplia gama de dolencias, particularmente dolencias como la tiña, la Cándida y la vaginitis, donde sus propiedades fungicidas, antisépticas, tónicas y parasiticidas han demostrado ser beneficiosas^{8,9}.

Staphylococcus aureuscomparte características con microorganismos Gram positivos, presenta una pared celular grueso compuesta por peptidoglicano, presenta una cadena de unión cruzada de pentaglicina que parece ser propia de esta especie, cuya función es mantener la rigidez de la pared bacteriana y hacerla resistente a la presión osmótica^{10,11}. Posee ciertos factores de virulencia que permiten que este microrganismo tenga éxito como patógeno y cause una amplia gama de infecciones humanas y animales¹².

Por otro lado, existen estudios relacionados con nuestra investigación como el de Martínez J. 13 quien determinó las concentraciones del extracto hidroalcólico y acuoso de hojas de *Datura stramonium* L. a la cual producen genotoxicidad, encontrando que el extracto hidroalcohólico causa daño genotóxico el cual es directamente

proporcional a la concentración y al tiempo de incubación, sin embargo, el extracto acuoso no demostró el mismo efecto.

Yaranga, L.¹⁴ realizó un estudio sobre larvas del mosquito *Culex quinquefasciatus*empleando extracto hidroalcohólico de las hojas y semillas de *Datura stramonium* "chamico", evaluó el efecto biotóxico a diferentes concentración y empleó el método de análisis Probit, demostrando mortalidad larval tanto en las semillas como hojas.

Tello, J. ¹⁵ evaluó el efecto antimicrobiano de los extractos acuosos de *Allium sativum* "Ajo" sobre *Streptococcus pneumoniae* y *Streptococcus pyogenes* empleando el método de Kirby Bauer obtuvo efecto antimicrobiano contra cepas de *Streptococcus pneumoniae* a las concentraciones de 90% y 100% del extracto y el efecto antimicrobiano contra cepas de *Streptococcus pyogenes* a las concentraciones de 80%, 90% y 100%.

Flores et al.¹⁶ determinó la eficiencia como insecticida para el control de la mosca de la sierra del extracto vegetal de *Datura stramonium* L., expuso los extractos hidroalcohólicos sobre la mosca sierra a diferentes tiempos para evaluar la repelencia y mortalidad, encontró una mortalidad de 7% hasta 30% dependiendo del tiempo observando el mejor efecto insecticida en las raíces, seguido de las hojas y el tallo.

Jasim H., et al ¹⁷ realizó un análisis fitoquímico y evaluó la actividad antimicrobiana de *Datura stramonium* mediante cromatografía de gases acoplado a espectroscopia de masas (GC-MS), encontrando efecto antimicrobiano contra *Escherichia coli, Proteus mirabilis, Staphylococcus aureus, Pseudomonas aerogenosa y Klebsiella pneumonia* lo que se relaciona a la presencia de los metabolitos encontrados.

Juárez, K. et al ¹⁸ evaluó el efecto de los extractos crudos de ajo (*Allium sativum*) sobre el desarrollo in vitro de *Aspergillus parsiticus* y *aspergillus niger*", se determinó la concentración mínima inhibitoria (CMI), la concentración fungicida e interacción mediante microscopía del extracto de ajo y los hongos, llegando a la conclusión de que el extracto crudo de ajo presentó actividad antifúngica frente a A. parasiticus y A. niger.

El presente proyecto muestra interés en la problemática local y mundial sobre el incremento de la resistencia bacteriana, en ese sentido, busca obtener tratamientos antibacterianos no farmacológicos alternativos a través del estudio de 02 plantas medicinales como son *Datura stramonium* (Chamico) y *Allium sativum* (Ajo) con el objetivo de demostrar su efecto antibacteriano sobre *Staphylococcus aureus*, bacteria que viene presentando grandes problemas en el sector salud por la rápida resistencia a los antibióticos que está presentando debido a mecanismos de defensa que produce.

El estudio determinó las propiedades de las plantas mediante la identificación de sus principios activos y demostrará la actividad antibacteriana de estas en un modelo "in vitro" frente a cepas *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

El estudio permitió obtener un tratamiento alternativo en las personas afectadas con *Staphylococcus aureus* sin producir resistencia bacteriana de esta, la que ayudará adisminuir los tiempos y costos de tratamiento de este tipo de patologías mejorando la calidad y esperanza de vida en las personas.

Los resultados de este trabajo servirán en beneficio de la sociedad y al sistema de salud, al presentar una alternativa económica sin riesgo de producción de resistencia bacteriana, problemática a nivel local y mundial, así mismo, se aportará con un nuevo conocimiento al exponer nuevos usos y potencial actividad antibacteriana de la *Datura Stramonium* "Chamico" y *Allium sativum* (Ajo), del mismo modo, aportará con la metodología, técnicas y procedimientos empleados para el logro de los objetivos de este trabajo, lo que permitirá ser aprovechado por futuras investigación en proyectos similares.

El objetivogeneral que nos planteamos fue: Demostrar la actividad antibacteriana in vitro del extracto etanólico de *Datura stramonium* "Chamico" y *Allium sativum* "Ajo" sobre *Staphylococcus aureus*y los objetivos específicos que ayudaron a demostrar el objetivo general son:

Determinar actividad antibacteriana del extracto etanólico de *Datura stramonium* "Chamico" al 100%, 75% y 50% sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Determinar actividad antibacteriana del extracto etanólico de *Allium sativum* "Ajo" al 100%, 75% y 50% sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Comparar efecto antibacteriano in vitro sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 del extracto etanólico de *Datura stramonium* "Chamico" y *Allium sativum* "Ajo" con el SMT+TMP.

La hipótesis general y específica formuladas fueron las siguientes:

Hipótesis general:

El extracto etanólico de *Datura stramonium* "Chamico" y *Allium sativum* "Ajo" tienen actividad antibacteriana in vitro frente *Staphylococcus aureus*.

Hipótesis alternas:

- El extracto etanólico de *Datura stramonium* "Chamico" tiene actividad antibacteriana sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923
- El extracto etanólico de *Allium sativum* "Ajo" tiene actividad antibacteriana sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923
- El extracto etanólico de *Datura stramonium* "Chamico" y *Allium sativum* "Ajo" tienen similar actividad antibacteriana in vitro frente *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 que el SMT+TMP

II. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Enfoque y diseño de investigación

La investigación presenta un enfoque cuantitativo con diseño experimental donde el investigador manipula las condiciones de las variables para demostrar su relación causa-efecto, además por el momento de recolección de los datos en un tiempo establecido se considera de corte transversal^{19,20}.

El diseño experimental tiene el siguiente diseño donde participan 4 grupos, con dos tratamientos correspondientes a la experimentación y dos controles.

| G1 | X1 | 01 |
|----|-----|----|
| G2 | X2 | 01 |
| G3 | (-) | O3 |
| G4 | (+) | 04 |

G1, G2, G3 y G4: Grupos de cepas de Staphylococcus aureus

X1: Tratamiento – Datura stramonium "Chamico"

X2: Tratamiento – Allium sativum "Ajo"

(-): Tratamiento con control negativo

(+): Tratamiento con control positivo

O1, O2, y O4: Relación causa/efecto observada.

2.2 Población, muestra y muestreo

La población de estudio se conformó por las especies vegetales de *Datura stramonium* "Chamico", recolectadas de la zona geográfica del Centro Poblado Menor Motupillo, distrito de Pitipo ubicado a 6°26'38.6" de latitud sur y 79°36'25.4" de longitud oeste, a una altura de 80 m.s.n.m. en la provincia de Ferreñafe *y Allium sativum* "Ajo" recolectadas en la zona geográfica del distrito de Zaña, provincia de Chiclayo ambas del departamento de Lambayeque a 6° 54` 15" de latitud sur y S 79°34` 27" de longitud oeste, a una altura de 46 m.s.n.m. , se recolectó con una cantidad muestral de las especies vegetales de 900g de hojas para el Chamico y 900g de bulbos para el ajo; se siguió un tipo de muestreo no probabilístico por conveniencia.

2.3 Variables de investigación

Las variables que participan en el estudio se presentan en el siguiente cuadro:

| VARIABLE INDEPENDIENTE | DIMENSIONES | TIPO | ESCALA |
|--|----------------------------------|--------------|---------|
| Extracto etanólico de <i>Datura stramonium</i> "Chamico" <i>y Allium sativum</i> "Ajo" | "Ajo" Concentración Cuantitativo | | Ordinal |
| VARIABLE DEPENDIENTE | DIMENSIONES | TIPO | ESCALA |
| Efecto antibacteriano | Medición de halos | Cuantitativo | Ordinal |

Variable independiente: Extracto etanólico de *Datura stramonium* "Chamico" *y Allium sativum* "Ajo"

<u>Definición conceptual:</u>Extracto etanólicos de *Datura stramonium* "Chamico" *y Allium sativum* "Ajo" a las concentraciones del 50%, 75% y 100% para ambos casos.

<u>Definición operacional:</u> Extracto etanólicos elaborados mediante el método de maceración en frío con etanol de 96°.

Variable dependiente: Efecto antibacteriano sobre Staphylococcus aureus

Definición conceptual: El diámetro del halo de inhibición la zona donde no se

observa crecimiento de Staphylococcus aureus.

<u>Definición operacional:</u> La actividad antibacteriana se evaluó la medida directa del

diámetro del halo de inhibición producido por acción de los extractos sobre

Staphylococcus aureus

2.4 Técnica e instrumento de recolección de datos

Difusión en disco o Kirby-Bauer: Es una técnica que nos permitió medir el efecto

antibacteriano de una sustancia mediante la aplicación de esta en discos que son

aplicados a cultivos en placas Petri. A esta técnica también se le conoce como Kirby

Bauer²¹.

Instrumento de recolección de datos: El instrumento que permitirá la recolección de

datos será una escala de medida métrico, para lo cual se empleará el vernier digital.

8

2.5 Proceso de recolección de datos

2.5.1. Autorización y coordinaciones previas para la recolección de datos

Se solicitó la autorización para el ingreso al fundo ubicado en el Centro Poblado Menor Motupillo, Ferreñafe y en el fundo del distrito de Zaña (anexo E y F), para el acceso y retiro de las especies vegetales, así mismo, se coordinó con el especialista biólogo-botánico para la identificación de las muestras vegetales, del mismo modo, se solicitó la adquisición de las cepas ATCC a través de un laboratorio de microbiología.

2.5.2. Recolección y preparación de la muestra vegetal de *Datura stramonium* "Chamico" y *Allium sativum* "Ajo":

Se recolectaron aproximadamente 900g de hojas de *Datura stramonium* "Chamico" y de bulbos de *Allium sativum* "Ajo" respectivamente, las muestras deberán ser frescas, sin daños o contaminación por plagas las que fueron extraídas directamente de las plantas, lavadas con agua destilada y puestas a corriente de aire para su secado, así mismo, se recolectaron dos ejemplares representativos para el estudio taxonómico.

2.5.3. Preparación del extracto hidroalcohólico de *Datura stramonium* "Chamico" y *Allium sativum* "Ajo":

Se tomaron 900g de las muestras secas y se trituraron en un molino de cuchillas manual, en el caso de las hojas secas de *Datura stramonium*se pasaron por un tamiz para uniformizar el tamaño de las hojas.

Se agregó a cada muestra vegetal 900mL de alcohol etílico de 96°, se trasvasó a un frasco de vidrio ámbar de 500mL de capacidad y se dejó macerar por 10 días, removiendo el macerado con movimientos circulares uniformes cada 8 horas por un periodo de 10 minutos.

Luego de trascurrido este tiempo se filtró en con papel de filtro Watman Nro. 01, se llevó a evaporación a 40°C en baño maría obteniendo el extracto alcohólico al 100%. De la misma manera se trabajó con *Allium sativum* "Ajo".

2.5.4. Reactivación de la cepa de Staphylococcus aureus:

Se retiró del refrigerador el sachet que contenía el liofilizado de *Staphylococcus* aureus 25923 y se dejó a temperatura ambiente por un tiempo de 2 horas para evitar el cambio brusco de temperatura al momento de la apertura del sachet.

Se procedió luego a la apertura del sachet del liofilizado y presionó sobre la ampolla que contenía el solvente para que se mezcle con el liofilizado de la cepa, se agitó hasta obtener la disolución completa del liofilizado.

Luego se saturó el hisopo estéril contenido en el sachet con la solución obtenida y se colocó en agar nutritivo, luego se llevó a incubación por 24 horas a temperatura de 37°C.

2.5.4. Preparación del inóculo:

Del cultivo obtenido de *Datura stramonium* "Chamico" y *Allium sativum* "Ajo" se extrajo una alícuota de 1000µL y se realizaron diluciones hasta alcanzar el estándar de Mc Farlandde 0.5.

Se preparómedios de cultivo con Agar Tripticasa Soya en 30 placasPetri grandes de la dilución obtenida se agregó 100µL a cada placa Petri y se extendió con un asa de Digrasky, luego se dejará secar por aproximadamente 15 minutos.

2.5.5. Prueba de sensibilidad:

Se agregaron 20µLde los diferentes extractos de *Datura stramonium* "Chamico" y *Allium sativum* "Ajo" a discos de papel de filtro de 6mm de diámetro y 0.02mm de espesor.

También se agregaron 20µL de etanol de 96° en un disco de 6mm de diámetro lo que representóel control negativo.

Se colocaron los discos con los diferentes extractos, así como el control negativo y el disco de SMT+TMP (control positivo) en cada placa Petri.

Las placas se llevaron a incubación por un tiempo de 24 horas a 37°C (ver anexo 6).

2.5.6. Determinación de la actividad antibacteriana:

Se retiró las placas Petri de la incubadora y se dejó sobre la mesa de trabajo por 20 minutos antes de empezar a trabajar.

Se procedió a medir con un vernier digital el tamaño de los halos de inhibición formados por los discos colocados.

Luego se procedió a registrar las medidas de los halos en el cuadro de registro elaborado para la recopilación de los datos.

2.6. Métodos de análisis estadísticos

Se realizó un análisis estadístico descriptivo de los grupos de datos y pruebas de normalidad, posteriormente se obtuvo el análisis de la varianza o ANOVA y la prueba de Tukey, posteriormente se obtuvo para comparar entre los grupos de estudio, con un alfa de 0,05^{22,23}.

2.7 Aspectos éticos

El principio de no maleficencia guiará el desarrollo de la investigación por el cual se compromete a no producir daño a los investigadores, terceras personas o medio ambiente cumpliendo estrictamente las medidas de cuidado, protocolos y normas de bioseguridad en el laboratorio de análisis^{24,25}.

III. RESULTADOS

Tabla 1: Diámetros en milímetros obtenidos de los halos de inhibición producidos por los extractos etanólicos de *Datura stramonium* (Chamico) al 100%, 75% y 50% sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

| | Porcentaje | | | Control Positivo | Control Negativo |
|-------|------------|-----|-----|------------------|------------------|
| Placa | 100% | 75% | 50% | (SMT+TMP) | (Etanol 96°) |
| 1 | 6,0 | 6,2 | 5,9 | 21,5 | 6,0 |
| 2 | 6,1 | 6,0 | 6,1 | 21,1 | 6,1 |
| 3 | 6,1 | 6,1 | 6,1 | 21,5 | 6,1 |
| 4 | 6,1 | 6,1 | 6,2 | 21,3 | 6,1 |
| 5 | 6,2 | 6,2 | 6,2 | 21,3 | 6,3 |
| 6 | 6,2 | 6,1 | 6,2 | 21,3 | 6,2 |
| 7 | 6,4 | 6,2 | 6,3 | 21,4 | 6,5 |
| 8 | 6,4 | 6,1 | 6,3 | 21,8 | 6,0 |
| 9 | 6,5 | 5,8 | 6,3 | 21,2 | 6,1 |
| 10 | 6,5 | 6,2 | 6,3 | 21,3 | 6,1 |
| 11 | 6,6 | 6,2 | 6,3 | 21,5 | 6,2 |
| 12 | 6,6 | 6,3 | 6,4 | 21,3 | 6,2 |
| 13 | 6,6 | 6,4 | 6,4 | 21,5 | 6,2 |
| 14 | 6,4 | 6,2 | 6,5 | 21,7 | 6,2 |
| 15 | 6,6 | 6,6 | 6,6 | 21,3 | 6,2 |
| 16 | 6,0 | 6,2 | 5,9 | 21,5 | 6,0 |
| 17 | 6,1 | 6,0 | 6,1 | 21,1 | 6,1 |
| 18 | 6,1 | 6,1 | 6,1 | 21,5 | 6,1 |
| 19 | 6,1 | 6,1 | 6,2 | 21,3 | 6,1 |
| 20 | 6,2 | 6,2 | 6,2 | 21,3 | 6,3 |
| 21 | 6,2 | 6,1 | 6,2 | 21,3 | 6,2 |
| 22 | 6,4 | 6,2 | 6,3 | 21,4 | 6,5 |
| 23 | 6,4 | 6,1 | 6,3 | 21,8 | 6,0 |
| 24 | 6,5 | 5,8 | 6,3 | 21,2 | 6,1 |
| 25 | 6,5 | 6,2 | 6,3 | 21,3 | 6,1 |
| 26 | 6,6 | 6,2 | 6,3 | 21,5 | 6,2 |
| 27 | 6,6 | 6,3 | 6,4 | 21,3 | 6,2 |
| 28 | 6,6 | 6,4 | 6,4 | 21,5 | 6,2 |
| 29 | 6,4 | 6,2 | 6,5 | 21,7 | 6,2 |
| 30 | 6,6 | 6,6 | 6,6 | 21,3 | 6,2 |

Fuente: Datos recolectados por el investigador. 2020

La tabla 1 muestra las mediciones de los halos producidos por los discos con los extractos etanólicos de *Datura stramonium* (Chamico) al 100%; 75% y 50%, para lo cual se realizaron 30 repeticiones de cada concentración, además de las medidas de los controles positivos y negativos en igual número de repeticiones sobre las cepas de *Staphylococcus aureus*ATCC 25923 cultivadas in vitro.

Tabla 2: Estadística descriptiva obtenida del tamaño de los halos de inhibición producidos por los extractos etanólicos de *Datura stramonium* (Chamico) al 100%, 75% y 50% sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

| | | | | | 95% del intervalo de confianza para la media | | | |
|--|----|--------|------------------------|-------------------|--|--------------------|--------|--------|
| | N | Media | Desviación estándar | Error estándar | Límite inferior | Límite superior | Mínimo | Máximo |
| Extracto etanólico - Chamico (100%) | 30 | 6,352 | 0,215 | 0,055 | 6,233 | 6,471 | 6,000 | 6,600 |
| Extracto etanólico - Chamico (75%) | 30 | 6,273 | 0,171 | 0,044 | 6,179 | 6,368 | 5,900 | 6,600 |
| Extracto etanólico - Chamico (50%) | 30 | 6,171 | 0,169 | 0,044 | 6,077 | 6,264 | 5,800 | 6,550 |
| Control Positivo (SMT+TMP) | 30 | 21,391 | 0,181 | 0,047 | 21,291 | 21,491 | 21,060 | 21,810 |
| Control Negativo (Etanol) | 30 | 6,164 | 0,126 | 0,032 | 6,094 | 6,234 | 6,000 | 6,540 |

Fuente: SPSS ver. 24. (2020)

La tabla 2, muestra los valores de la media, desviación estándar, error estándar, los límites inferior y superior para un nivel de confianza del 95% y los valores máximo y mínimo obtenidos de los datos recolectados para los halos de inhibición producidos por efecto de los extractos etanólicos de *Datura stramonium* (Chamico)al100%; 75% y 50%, control positivo y negativo.

Tabla 3: Categorización de los halos de inhibición según el Aromatograma de sensibilidad de Duraffourd para el extracto etanólico de Datura stramonium (Chamico)

| Muestra de prueba | Nula | Sensible | Intermedio | Sumamente sensible | |
|-------------------------------------|--------------------|------------|------------|---------------------|--|
| | (<u><</u> 8mm) | (9 - 14mm) | (15-19 mm) | (<u>></u> 20mm) | |
| Extracto etanólico - Chamico (100%) | 6,352 | - | - | - | |
| Extracto etanólico - Chamico (75%) | 6,273 | - | - | - | |
| Extracto etanólico - Chamico (50%) | 6,171 | - | - | - | |

| Control Positivo (SMT+TMP) | - | - | - | 21,391 |
|-------------------------------|-------|---|---|--------|
| Control Negativo (Etanol) | 6,164 | - | - | - |

La tabla 3 muestra la sensibilidad de los extractos etanólicos frente a Staphylococcus aureus según la Escala de Duraffourd, se observa que el promedio obtenido de cada concentración de extracto etanólico de *Datura stramonium* (Chamico) presenta sensibilidad nula según esta escala, igual que el control negativo (etanol 96°).

Tabla 4: Diámetrosen milímetros obtenidos de los halos de inhibición producidos por los extractos etanólicos de *Allium sativum* (Ajo) al 100%, 75% y 50% sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

| | Porcentaje | | Control | Control | |
|-------|------------|------|---------|--------------------|--------------------------|
| Placa | 50% | 75% | 100% | Positivo (SMT+TMP) | Negativo (Etanol 96°) |
| 1 | 10,6 | 16,9 | 20,6 | 21,5 | 6,0 |
| 2 | 10,9 | 17,0 | 20,3 | 21,1 | 6,1 |
| 3 | 10,5 | 17,4 | 20,5 | 21,5 | 6,1 |
| 4 | 10,8 | 16,9 | 20,3 | 21,3 | 6,1 |
| 5 | 10,7 | 17,0 | 20,6 | 21,3 | 6,3 |
| 6 | 10,9 | 17,0 | 20,7 | 21,3 | 6,2 |
| 7 | 10,7 | 17,1 | 20,6 | 21,4 | 6,5 |
| 8 | 10,5 | 16,9 | 20,7 | 21,8 | 6,0 |
| 9 | 10,5 | 17,2 | 20,2 | 21,2 | 6,1 |
| 10 | 11,0 | 17,1 | 20,6 | 21,3 | 6,1 |
| 11 | 10,7 | 17,5 | 20,5 | 21,5 | 6,2 |
| 12 | 10,4 | 17,2 | 20,2 | 21,3 | 6,2 |
| 13 | 10,8 | 17,0 | 20,1 | 21,5 | 6,2 |
| 14 | 10,5 | 17,3 | 20,4 | 21,7 | 6,2 |
| 15 | 10,5 | 17,5 | 20,3 | 21,3 | 6,2 |
| 16 | 10,6 | 16,9 | 20,6 | 21,5 | 6,0 |
| 17 | 10,9 | 17,0 | 20,3 | 21,1 | 6,1 |
| 18 | 10,5 | 17,4 | 20,5 | 21,5 | 6,1 |
| 19 | 10,8 | 16,9 | 20,3 | 21,3 | 6,1 |
| 20 | 10,7 | 17,0 | 20,6 | 21,3 | 6,3 |
| 21 | 10,9 | 17,0 | 20,7 | 21,3 | 6,2 |
| 22 | 10,7 | 17,1 | 20,6 | 21,4 | 6,5 |
| 23 | 10,5 | 16,9 | 20,7 | 21,8 | 6,0 |
| 24 | 10,5 | 17,2 | 20,2 | 21,2 | 6,1 |
| 25 | 11,0 | 17,1 | 20,6 | 21,3 | 6,1 |
| 26 | 10,7 | 17,5 | 20,5 | 21,5 | 6,2 |
| 27 | 10,4 | 17,2 | 20,2 | 21,3 | 6,2 |
| 28 | 10,8 | 17,0 | 20,1 | 21,5 | 6,2 |
| 29 | 10,5 | 17,3 | 20,4 | 21,7 | 6,2 |
| 30 | 10,5 | 17,5 | 20,3 | 21,3 | 6,2 |

Fuente: Datos recolectados por el investigador. 2020

La tabla 4 muestra las mediciones de los halos producidos por los discos con los extractos etanólicos de *Allium sativum*(Ajo) al 100%; 75% y 50%, para lo cual se realizaron 30 repeticiones de cada concentración, además de las medidas de los controles positivos y negativos en igual número de repeticiones sobre las cepas de *Staphylococcus aureus*ATCC 25923 cultivadas in vitro.

Tabla 5: Estadística descriptiva obtenida del tamaño de los halos de inhibición producidos por los extractos etanólicos de *Allium sativum* (Ajo) al 100%, 75% y 50% sobre Staphylococcus aureus ATCC 25923

Diámetro del halo de inhibición

| <u> </u> | | | | | | | | |
|---------------------------------------|----|--------|------------------------|-------------------|---|--------------------|--------|--------|
| | | | | | 95% del intervalo de confianza para la media | | | |
| | N | Media | Desviación estándar | Error estándar | Límite inferior | Límite superior | Mínimo | Máximo |
| Extracto etanólico - Ajo (100%) | 30 | 20,433 | 0,189 | 0,049 | 20,328 | 20,537 | 20,110 | 20,690 |
| Extracto etanólico - Ajo (75%) | 30 | 17,126 | 0,204 | 0,053 | 17,013 | 17,239 | 16,880 | 17,480 |
| Extracto etanólico - Ajo (50%) | 30 | 10,659 | 0,186 | 0,048 | 10,556 | 10,762 | 10,410 | 10,970 |
| Control Positivo (SMT+TMP) | 30 | 21,391 | 0,181 | 0,047 | 21,291 | 21,491 | 21,060 | 21,810 |
| Control Negativo (Etanol) | 30 | 6,164 | 0,126 | 0,032 | 6,094 | 6,234 | 6,000 | 6,540 |

Fuente: SPSS ver. 24. (2020)

La tabla 5, muestra los valores de la media, desviación estándar, error estándar, los límites inferior y superior para un nivel de confianza del 95% y los valores máximo y mínimo obtenidos de los datos recolectados de las medidas del diámetro de los halos de inhibición producidos por los extractos etanólicos de *Allium sativum* (Ajo) al100%; 75% y 50%, control positivo y negativo sobre cepas de *Staphylococcus aureus*ATCC 25923.

Tabla 6:Categorización de los halos de inhibición según el Aromatograma de sensibilidad de Duraffourd para el extracto etanólico de *Allium sativum* (Ajo)

| Muestra de prueba | Nula (<u><</u> 8mm) | Sensible (9 - 14mm) | Intermedio (15-19 mm) | Sumamente sensible (<u>></u> 20mm) |
|------------------------------------|----------------------------|------------------------|--------------------------|--|
| Extracto etanólico - Ajo (100%) | - | - | - | 20.433 |
| Extracto etanólico - Ajo (75%) | - | - | 17.126 | - |
| Extracto etanólico - Ajo (50%) | - | 10.659 | - | - |
| Control Positivo (SMT+TMP) | - | - | - | 21,391 |
| Control Negativo (Etanol) | 6,164 | <u>-</u> | - | - |

La tabla 6 muestra la sensibilidad de los extractos etanólicos frente a *Staphylococcus aureus* según la Escala de Duraffourd, se observa que el extracto etanólico de *Allium sativum*(Ajo) es sumamente sensible para la concentración del 100% (20,433 mm.), tiene sensibilidad intermedia para la concentración del 75% (17,126 mm.) y es sensible a una concentración del 50% (10,659 mm.) según esta escala.

La concentración del 100% del extracto etanólico de *Allium sativum*(Ajo) mostró un promedio del halo de inhibición de 20,433 mm. la cual es similar a la del control positivo (SMT+TMP) con un halo de inhibición promedio de 21,391 mm.

Tabla 7: Prueba de Normalidad de Shapiro-Wilk

| | | Shapiro-Wilk | | | | |
|-------------------------|---|--------------|----|------|--|--|
| Grupos de trabajo | | Estadístico | gl | Sig. | | |
| | Extracto etanólico - Chamico (100%) | 0,88 | 30 | 0,05 | | |
| Diámetro del halo de | Extracto etanólico - Chamico (75%) | 0,96 | 30 | 0,72 | | |
| inhibición | Extracto etanólico - Chamico (50%) | 0,94 | 30 | 0,44 | | |
| | Extracto etanólico - Ajo (100%) | 0,92 | 30 | 0,21 | | |
| | Extracto etanólico - Ajo (75%) | 0,89 | 30 | 0,07 | | |
| | Extracto etanólico - Ajo (50%) | 0,92 | 30 | 0,21 | | |
| | Control Positivo (SMT+TMP) | 0,95 | 30 | 0,49 | | |
| | Control Negativo (Etanol) | 0,83 | 30 | 0,01 | | |

Fuente: SPSS ver. 24. (2020)

En la tabla 7, se observa el análisis de los datos para demostrar la distribución normal de estos, realizado en el software estadístico SPSS versión 24, la prueba escogida es la de Normalidad de Shapiro-Wilk, se obtiene en todos los grupos de trabajo un nivel de significancia superior al 0,05; con 30 grados de libertad, por lo tanto, todos los datos presentan distribución normal.

Tabla 8: Prueba de homogeneidad de varianzas (Levene)

Diámetro del halo de inhibición

| Estadístico de Levene | df1 | df2 | p-valor |
|--------------------------|-----|-----|---------|
| 1,611 | 7 | 112 | 0,139 |

Fuente: SPSS ver. 24. (2020)

En la tabla 8, se representan los resultados obtenidos tras la aplicación del estadístico de Levene o prueba de homogeneidad de varianzas para datos paramétricos, se obtiene un p-valor de 0.139 el cual es superior al 0,05 planteado para los análisis estadísticos, por lo tanto, se acepta que todos los datos son homogéneos.

Tabla 9:Prueba comparaciones múltiples entre grupos

| (I) Grupos de trabajo | | Diferencia | | | 95% de intervalo de confianza | |
|-----------------------|-------------------------------------|------------------------|-------------------|-------|----------------------------------|--------------------|
| | | de medias (I-J) | Error estándar | Sig. | Límite inferior | Límite superior |
| Extracto etanólico - | Extracto etanólico - Chamico (50%) | 0,103 | 0,066 | 0,780 | -0,102 | 0,308 |
| Chamico (75%) | Extracto etanólico - Chamico (100%) | -0,079 | 0,066 | 0,935 | -0,284 | 0,126 |
| | Extracto etanólico - Ajo (100%) | -14,15933 [*] | 0,066 | 0,000 | -14,364 | -13,954 |
| | Extracto etanólico - Ajo (75%) | -10,85267 [*] | 0,066 | 0,000 | -11,058 | -10,648 |
| | Extracto etanólico - Ajo (50%) | -4,38600* | 0,066 | 0,000 | -4,591 | -4,181 |
| | Control Positivo (SMT+TMP) | -15,11733 [*] | 0,066 | 0,000 | -15,322 | -14,912 |
| | Control Negativo (Etanol) | 0,109 | 0,066 | 0,720 | -0,096 | 0,314 |
| Extracto etanólico - | Extracto etanólico - Chamico (75%) | -0,103 | 0,066 | 0,780 | -0,308 | 0,102 |
| Chamico (50%) | Extracto etanólico - Chamico (100%) | -0,181 | 0,066 | 0,124 | -0,386 | 0,024 |
| | Extracto etanólico - Ajo (100%) | -14,26200 [*] | 0,066 | 0,000 | -14,467 | -14,057 |
| | Extracto etanólico - Ajo (75%) | -10,95533 [*] | 0,066 | 0,000 | -11,160 | -10,750 |
| | Extracto etanólico - Ajo (50%) | -4,48867 [*] | 0,066 | 0,000 | -4,694 | -4,284 |
| | Control Positivo (SMT+TMP) | -15,22000 [*] | 0,066 | 0,000 | -15,425 | -15,015 |

| | Control Negativo (Etanol) | 0,007 | 0,066 | 1,000 | -0,198 | 0,212 |
|--|-------------------------------------|------------------------|-------|-------|---------|---------|
| Extracto etanólico - Chamico (100%) | Extracto etanólico - Chamico (75%) | 0,079 | 0,066 | 0,935 | -0,126 | 0,284 |
| | Extracto etanólico - Chamico (50%) | 0,181 | 0,066 | 0,124 | -0,024 | 0,386 |
| | Extracto etanólico - Ajo (100%) | -14,08067 [*] | 0,066 | 0,000 | -14,286 | -13,876 |
| | Extracto etanólico - Ajo (75%) | -10,77400 [*] | 0,066 | 0,000 | -10,979 | -10,569 |
| | Extracto etanólico - Ajo (50%) | -4,30733 [*] | 0,066 | 0,000 | -4,512 | -4,102 |
| | Control Positivo (SMT+TMP) | -15,03867 [*] | 0,066 | 0,000 | -15,244 | -14,834 |
| | Control Negativo (Etanol) | 0,188 | 0,066 | 0,097 | -0,017 | 0,393 |
| Extracto etanólico - | Extracto etanólico - Chamico (75%) | 14,15933 [*] | 0,066 | 0,000 | 13,954 | 14,364 |
| Ajo (100%) | Extracto etanólico - Chamico (50%) | 14,26200 [*] | 0,066 | 0,000 | 14,057 | 14,467 |
| | Extracto etanólico - Chamico (100%) | 14,08067* | 0,066 | 0,000 | 13,876 | 14,286 |
| | Extracto etanólico - Ajo (75%) | 3,30667* | 0,066 | 0,000 | 3,102 | 3,512 |
| | Extracto etanólico - Ajo (50%) | 9,77333* | 0,066 | 0,000 | 9,568 | 9,978 |
| | Control Positivo (SMT+TMP) | -,95800 [*] | 0,066 | 0,000 | -1,163 | -0,753 |
| | Control Negativo (Etanol) | 14,26867* | 0,066 | 0,000 | 14,064 | 14,474 |
| Extracto etanólico - | Extracto etanólico - Chamico (75%) | 10,85267 [*] | 0,066 | 0,000 | 10,648 | 11,058 |
| Ajo (75%) | Extracto etanólico - Chamico (50%) | 10,95533 [*] | 0,066 | 0,000 | 10,750 | 11,160 |
| | Extracto etanólico - Chamico (100%) | 10,77400 [*] | 0,066 | 0,000 | 10,569 | 10,979 |
| | Extracto etanólico - Ajo (100%) | -3,30667 [*] | 0,066 | 0,000 | -3,512 | -3,102 |
| | Extracto etanólico - Ajo (50%) | 6,46667 [*] | 0,066 | 0,000 | 6,262 | 6,672 |
| | Control Positivo (SMT+TMP) | -4,26467 [*] | 0,066 | 0,000 | -4,470 | -4,060 |
| | Control Negativo (Etanol) | 10,96200 [*] | 0,066 | 0,000 | 10,757 | 11,167 |
| Extracto etanólico - | Extracto etanólico - Chamico (75%) | 4,38600 [*] | 0,066 | 0,000 | 4,181 | 4,591 |
| Ajo (50%) | Extracto etanólico - Chamico (50%) | 4,48867 [*] | 0,066 | 0,000 | 4,284 | 4,694 |
| | Extracto etanólico - Chamico (100%) | 4,30733* | 0,066 | 0,000 | 4,102 | 4,512 |
| | Extracto etanólico - Ajo (100%) | -9,77333* | 0,066 | 0,000 | -9,978 | -9,568 |
| | Extracto etanólico - Ajo (75%) | -6,46667* | 0,066 | 0,000 | -6,672 | -6,262 |

| | Control Positivo (SMT+TMP) | -10,73133 [*] | 0,066 | 0,000 | -10,936 | -10,526 |
|---------------------|--|------------------------|-------|-------|---------|---------|
| | Control Negativo (Etanol) | 4,49533* | 0,066 | 0,000 | 4,290 | 4,700 |
| Control Positivo | Extracto etanólico - Chamico (75%) | 15,11733 [*] | 0,066 | 0,000 | 14,912 | 15,322 |
| (SMT+TMP) | Extracto etanólico - Chamico (50%) | 15,22000 [*] | 0,066 | 0,000 | 15,015 | 15,425 |
| | Extracto etanólico - Chamico (100%) | 15,03867 [*] | 0,066 | 0,000 | 14,834 | 15,244 |
| | Extracto etanólico - Ajo (100%) | ,95800 [*] | 0,066 | 0,000 | 0,753 | 1,163 |
| | Extracto etanólico - Ajo (75%) | 4,26467 [*] | 0,066 | 0,000 | 4,060 | 4,470 |
| | Extracto etanólico - Ajo (50%) | 10,73133 [*] | 0,066 | 0,000 | 10,526 | 10,936 |
| | Control Negativo (Etanol) | 15,22667 [*] | 0,066 | 0,000 | 15,022 | 15,432 |
| Control Negativo | Extracto etanólico - Chamico (75%) | -0,109 | 0,066 | 0,720 | -0,314 | 0,096 |
| (Etanol) | Extracto etanólico - Chamico (50%) | -0,007 | 0,066 | 1,000 | -0,212 | 0,198 |
| | Extracto etanólico - Chamico (100%) | -0,188 | 0,066 | 0,097 | -0,393 | 0,017 |
| | Extracto etanólico - Ajo (100%) | -14,26867 [*] | 0,066 | 0,000 | -14,474 | -14,064 |
| | Extracto etanólico - Ajo (75%) | -10,96200* | 0,066 | 0,000 | -11,167 | -10,757 |
| | Extracto etanólico - Ajo (50%) | -4,49533* | 0,066 | 0,000 | -4,700 | -4,290 |
| | Control Positivo (SMT+TMP) | -15,22667* | 0,066 | 0,000 | -15,432 | -15,022 |

^{*.} La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05

Fuente: SPSS ver. 24. (2020)

La tabla 9, muestra el análisis comparado de los grupos de trabajo (extractos etanólicos, control positivo y control negativo) mediante la prueba de comparaciones múltiples o prueba de Tukey realizada en el software estadístico SPSS versión 24, con un nivel de significancia de 0,05.

Tabla 10:Prueba de Tukey realizada a los grupos de trabajo

Diámetro del halo de inhibición

HSD Tukey^a

| Grupos de | | Subconjunto para alfa = 0.05 | | | | 5 |
|---|----|------------------------------|---------|---------|---------|---------|
| trabajo | N | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| Control Negativo (Etanol) | 30 | 6,1640 | | | | |
| Extracto etanólico - Chamico (50%) | 30 | 6,1707 | | | | |
| Extracto etanólico - Chamico (75%) | 30 | 6,2733 | | | | |
| Extracto etanólico - Chamico (100%) | 30 | 6,3520 | | | | |
| Extracto etanólico - Ajo (50%) | 30 | | 10,6593 | | | |
| Extracto etanólico - Ajo (75%) | 30 | | | 17,1260 | | |
| Extracto etanólico - Ajo (100%) | 30 | | | | 20,4327 | |
| Control Positivo (SMT+TMP) | 30 | | | | | 21,3907 |
| Sig. | | 0,097 | 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 = 15,000.

Fuente: SPSS ver. 24, 2020

En la tabla 10, se muestra un resumen por sub-conjuntos de la prueba de Tukey donde se puede visualizar de mejor manera la comparación de los grupos de trabajos y su relación entre ellos, se observa una extrecha relación entre los grupos del extracto etanólico de *Datura stramonium* (Chamico)al100%, 75% y 50% y el control negativo, de la misma manera no se observa más relación entre el resto de los grupos presentados.

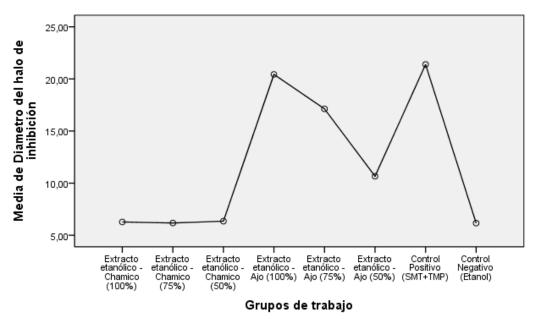


Figura 1: Gráfico de medias de los grupos de análisis

Fuente: SPSS ver. 24. 2020

En lafigura 1, se puede apreciar de manera visual el comportamiento similar que presentan los extractos etanólicos de *Datura stramonium* (Chamico)al100%, 75% y 50% y el control negativo, así mismo, se observa una relación lineal del efecto antibacteriano de los extractos etanólicos de *Allium sativum* (Ajo) al100%, 75% y 50% de acuerdo a su concentración. La concentración que más se aproxima al control positivo es la del 100% de *Allium sativum* (Ajo)

IV. DISCUSIÓN

4.1. Discusión de resultados

Los resultados mostrados en la tabla 5 indican que los extractos etanólicos de Datura stramonium (Chamico) al 100%, 75% y 50% presentan un halo de inhibición promedio de 6,352 mm, 6,273 mm 6,171 mm respectivamente al exponerlos frente a Staphylococcus aureus ATCC 25923, el tamaño del diámetro encontrado en estos es similar al control negativo (6,164 mm) estos resultados difieren de la investigación realizada por Jasim, H. et al (2015) realizado en Iraq mediante la técnica de difusión en pozo, donde encontraron un halo de inhibición libre de 1,3 + 0.5 mm para Staphylococcus aureus, demostrando un potencial efecto antibacteriano de esta planta, dicho efecto se le atribuyen a los alcaloides de la planta que fueron identificados mediante cromatografía de gases acoplado a espectrofotometría de masas. En el estudio realizado por Jasim, H. et al. las hojas pulverizadas fueron tratadas con ácido sulfúrico al 5% en etanol al 50%, esto favoreció la extracción de los alcaloides de la planta diferencia que puede reflejarse en nuestros resultados debido a que la técnica empleada no fue la misma, solo se utilizó el etanol como solvente para la extracción de los componentes de la planta.

Banso, A. y Adeyemo, S. realizaron un estudio con el extracto alcohólico de *Datura stramonium* en Nigeria (2006), el extracto fue aplicado según la técnica de difusión en disco a *Pseudomonas aeruginosa, Klebsiela pneumonia y Escherichia coli;* no se observó en el estudio halos de inhibición de gran tamaño ni un gran cambio en el tamaño de estos con el aumento de la concentración, el estudio explica que el efecto antibacteriano observado pudo deberse de igual manera a los alcaloides, saponinas, taninos y glicósidos los cuales fueron identificados en el extracto, en el estudio emplearon acidificantes para favorecer la extracción de los alcaloides y etanol a baja concentración.

Los resultados mostrados en la tabla 7 muestran que los extractos etanólicos de Datura stramonium presentan **Sensibilidad Nula** según la escala de sensibilidad antimicrobiana de Duraffourd. Existen escasas investigaciones sobre el efecto del extracto etanólico de Datura stramonium sobre bacterias en especial Staphylococcus aureus, más aun, los estudios encontrados no precisan la forma

de extracción, la concentración de etanol, ni el tiempo de contacto con la muestra vegetal. La acidificación de la muestra previa a la extracción, el incremento del tiempo de maceración pueden ser factores que incrementen el efecto antibacteriano, en el presente estudio solo se consideró un tiempo de 24 horas y sin acidificación de la muestra.

Martínez J. demostró que *Datura stramonium* "chamico" presenta genotoxicidad al exponerlo a ADN humano, del mismo modo, Yaranga, L. demostró que el extracto hidroalcohólico de chamico presenta actividad larvicida al exponerlo a larvas de *Culex quinquefasciatus*, estos estudios demuestran que *Datura stramonium* presenta gran actividad sobre esas especies pero no nos confirma su actividad sobre microorganismos como *Staphylococcus aureus* u otros.

La tabla 9 muestra los promedios de los halos de inhibición obtenidos por la acción antibacteriana de los extractos etanólicos de *Allium sativum* (Ajo) sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 al 100% (20,43 mm), 75% (17,126 mm) y 50% (10,66 mm), así como su rango de variación. Existe una diferencia marcada en el tamaño de los halos de inhibición de cada concentración, así como una variación directamente proporcional con la concentración de los extractos y el halo de inhibición. Las medidas de los halos de inhibición producidos por todos los extractos etanólicos de *Allium sativum* (Ajo) superan el tamaño promedio del halo de inhibición producido por el control negativo (etanol 96°), el extracto al 100% *Allium sativum* (Ajo) presenta un tamaño de halo de inhibición similar al del control positivo (SMT+TMP), lo que demostraría su efectividad antibacteriana comparada.

En la tabla 10 observamos que los extractos etanólicos de *Allium* sativumpresentan sensibilidad a una concentración del 50%, sensibilidad intermedia a una concentración del 75% y son sumamente sensibles a una concentración del 100% frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923; según la escala de sensibilidad antimicrobiana de Duraffourd.

Los resultados encontrados con el extracto etanólico de *Allium sativum* son similares a los encontrados por Tello J, (2016) quién evaluó el efecto antimicrobiano de los extractos acuosos de *Allium sativum* "ajo" a diferentes concentraciones sobre *Streptococcus pneumoniae* y *Streptococcus pyogenes*,

demostrando que dichos extractos presentan efecto antibacteriano sobre estas cepas a concentraciones mayores del 80%, empleando la misma técnica de Kirby-Bauer.

Juárez, K. et al (2019) también demostró actividad antifúngica del extracto de ajo con halos de inhibición para *Aspergillus parsiticus* de 14,3 mm, 17,5 mm, 20,0 mm, 20,5 mm, 22,4 mm y para *Aspergillus niger*, halos de inhibición de 30,1 mm, 30,8 mm, 31.5, mm, 31,7 mm, y 31,9 mm, para las concentraciones de 50%, 66%, 75%, 80% y 100% respectivamente de los extractos crudos de *Allium sativum*.

Sin embargo, se muestra un resultado contradictorio en el estudio realizado por Julca G. quien evaluó el efecto antibacteriano del liofilizado de *Allium sativum* a concentraciones de 0.5%, 1.5%, 10% y 25%. Las bajas concentraciones del extracto y el liofilizado podrían jugar un papel importante en los resultados encontrados en este estudio, debido a que la alicina al someterse a un proceso de congelado brusco provocaría la inhibición de la enzima alinasa, que convierte la aliina en alicina, siendo esta última unos de los compuestos que le confieren al ajo sus propiedades antimicrobianas.

Varios estudios demuestran el efecto antibacteriano y antifúngico de los extractos acuosos de *Allium sativum*, pero pocos han demostrado el efecto de los extractos etanólicos y su actividad antibacteriana de este sobre *Staphylococcus aureus*.

La alicina, los ajoenos y el trisulfuro de dialilo contenidos en el *Allium sativum* (Ajo) le confieren a este las propiedades antimicrobianas y antifúngicas, estas sustancias son solubles en medio acuoso, debido a las características similares del agua con el etanol, este último ha sido capaz de extraer los compuestos del ajo y demostrar su efecto antibacteriano sobre *Staphylococcus aureus*.

El análisis comparativo entre los grupos se realizó por pruebas previas para determinar el comportamiento normal de los datos como son la de Shapiro-Wilk y la prueba de homogeneidad de varianzas o test de Levene, los resultados muestran que los datos corresponden a una distribución normal.

La prueba de comparaciones múltiples o prueba de Tukey que nos permite determinar si las medias de los grupos de datos presentan diferencias estadísticamente significativas con un nivel de confianza del 95%. La tabla 13 muestra que los grupos de datos correspondientes a los extractos etanólicos de *Datura stramonium* y el control negativo no presentan diferencias significativas.

Si existe diferencia significativa entre los grupos de datos de los extractos etanólicos de *Allium sativum* y el control positivo, lo que demuestra la relación creciente del efecto antibacteriano y la concentración del extracto. A pesar de que el extracto etanólico de *Allium sativum* al 100% presenta un halo de inhibición similar al producido por el control positivo, no se logró demostrar estadísticamente que presente el mismo efecto antibacteriano.

4.2.Conclusiones

Se logró determinar que los extractos etanólicos de *Datura stramonium* "Chamico" a diferentes concentraciones no presentan actividad antibacteriana sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Se logró determinar que los extractos etanólicos de *Allium sativum* "Ajo" al 100%, 75% y 50% presentan actividad antibacteriana sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Se observó que los extractos etanólicos de *Allium sativum* "Ajo" presentan mayor efecto antibacteriano que los extractos etanólicos de *Datura stramonium* "Chamico".

4.3. Recomendaciones

La existencia de contradicción de los resultados del estudio con otras investigaciones similares, respecto a la actividad antibacteriana del *Datura stramonium* "Chamico" puede ser objeto de nuevos estudios, por lo que se recomienda emplear otros procedimientos extractivos, variación del tiempo de extracción, diferentes partes de la planta y diferentes concentraciones de etanol que logren facilitar la extracción de los metabolitos de la planta y demostrar su eficacia antibacteriana.

Demostrada la actividad antibacteriana del *Allium sativum* "Ajo" sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 en esta investigación, se recomienda emplear los mismos procedimientos para ampliar su efecto sobre otros microorganismos, así mismo, aplicar estos conocimientos en la formulación de preparados farmacéuticos para tratar infecciones por esta bacteria.

El uso de *Allium sativum* "Ajo" como tratamiento complementario a infecciones debe ser considerado por las instituciones de salud para lograr un mayor impacto en el tratamiento estas enfermedades y disminuir costos por tratamientos medicamentosos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Organización Mundial de la Salud. Plan de acción mundial sobre la resistencia a los antimicrobianos [Internet]. Ginebra; 2016 [citado 24 de septiembre de 2019].
 Disponible en: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/255204/9789243509761-spa.pdf;jsessionid=FF3B521C821DE3A0930CB2BE13EFB7D2?sequence=1
- Organización Mundial de la Salud. La OMS publica la lista de las bacterias para las que se necesitan urgentemente nuevos antibióticos [Internet]. OMS.
 2017 [citado 24 de mayo de 2019]. Disponible en: https://www.who.int/es/news-room/detail/27-02-2017-who-publishes-list-ofbacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed
- Organización Mundial de la Salud. El primer informe mundial de la OMS sobre la resistencia a los antibióticos pone de manifiesto una grave amenaza para la salud pública en todo el mundo. WHO [Internet]. 2014 [citado 24 de septiembre de 2019]; Disponible en: https://www.who.int/mediacentre/news/releases/2014/amr-report/es/
- García C. Resistencia antibiótica en el Perú [Internet]. Colegio Médico del Perú; 2012 [citado 11 de octubre de 2020] p. 99-103. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1728-59172012000200010
- 5. Aguilar Gamboa FR, Aguilar Martinez SL, Cubas Alarcón DM, Coaguila Cusicanqui LÁ, Fernández Valverde DA, Mario Cecilio MM, et al. Portadores de bacterias multirresistentes de importancia clínica en áreas críticas (UCI-UCIN) de un hospital al norte del Perú. Horiz Médico [Internet]. 2016 [citado 24 de mayo de 2019];16(3):50-7. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1727-558X2016000300008
- 6. Bruneton J. Farmacognosia: Fitoquímica. Plantas medicinales. 2da ed. Editorial Acribia, S.A.; 2010.
- 7. Kuklinski C. Farmacognosia: «Estudios de las Drogas y Sustancias Medicamentosas de Origen Natural». Barcelona España: Ediciones Omega

- S.A.; 2010. 400 p.
- 8. Allium sativum L. [Internet]. Plant Encyclopaedia A.Vogel. 2018 [citado 7 de agosto de 2019]. Disponible en: https://www.avogel.ch/en/plant-encyclopaedia/allium_sativum.php
- Allium sativum Garlic [Internet]. PFAF Plant Database. 2017 [citado 7 de agosto de 2019]. Disponible en: https://pfaf.org/user/plant.aspx?latinname=Allium+sativum
- Prats G. Microbiología Clínica. Alcocer A, editor. España: Editorial Médica Panamericana; 2015.
- Allen, Janda. Koneman- Diagnóstico microbiológico. 6ta. ed. Washington W,
 editor. Madrid España: Editorial Médica Panamericana; 2006.
- 12. Carmona E, Sandoval S, García C. Frecuencia y Susceptibilidad antibiótica del Staphylococcus aureus proveniente de hisopados nasales en una población urbano marginal de Lima, Perú [Internet]. Vol. 29, Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública. Instituto Nacional de Salud; 2012 [citado 20 de septiembre de 2019]. Disponible en: https://rpmesp.ins.gob.pe/index.php/rpmesp/article/view/342/2507
- Martinez J. Genotoxicidad in vitro de hojas de Datura stramonium L. "chamico".
 Ayacucho, 2016. [Internet]. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga;
 2017. Disponible en: http://repositorio.unsch.edu.pe/handle/UNSCH/1711
- 14. Yaranga Zaga L. Efecto biotóxico del extracto hidroalcohólico de las hojas y semillas de Datura stramonium "chamico" sobre larvas del mosquito Culex quinquefasciatus. [Internet]. 2015 [citado 29 de septiembre de 2020]. Disponible en: https://alicia.concytec.gob.pe/vufind/Record/UNSJ_bcfd0ce4ccf0bba94fcc5b55 d486e1b4/Description#tabnav
- 15. Tello Quiche JO. Efecto Antimicrobiano del extracto acuoso de Allium sativum "ajo" sobre Streptococcus pneumoniae y Streptococcus pyogenes. Estudio in vitro. Universidad César Vallejo; 2016.
- 16. Flores-Villegas MY, González-Laredo RF, Prieto-Ruíz JÁ, Pompa-García M,

- Ordaz-Díaz LA, Domínguez-Calleros PA. Eficiencia del extracto vegetal de Datura stramonium L. como insecticida para el control de la mosca sierra. Rev Madera y Bosques. 2019;25(1):1-11.
- 17. Altameme HJ, Hameed IH, Kareem MA. Analysis of alkaloid phytochemical compounds in the ethanolic extract of Datura stramonium and evaluation of antimicrobial activity. African J Biotechnol. 2015;14(19):1668-74.
- Juárez-Segovia K., Díaz-Darcía E., Méndez-López M., Pina-Canseco M., Pérez-Santiago A., Sánchez-Medina M. Efecto de los extractos crudos de ajo (Allium sativum) sobre el desarollo in vitro de Aspergillus parasiticus y Aspergillus niger. Polibotánica. 2019;0(46):99-111.
- 19. Hernández Sampieri R. Metodología de la Investigación. 6ta edició. México, D.F.: Mc Graw Hill; 2014.
- Grove S, Gray J. Investigación en Enfermería: Desarrollo de la práctica enfermera basada en evidencia. 7ma ed. Barcelona - España: Elsevier; 2019.
 487 p.
- 21. Rojas N, Chaves E, García F. Bacteriología diagnóstica. Universidad de Costa Rica. Costa Rica: Facultad de Microbiología; 2015.
- 22. Kuehl R. Diseño de Experimentos. Vol. 43, Technometrics. 2016. 236-237 p.
- 23. Jorge Dagnino S. Comparaciones múltiples. Rev Chil Anest. 2016;43(4):311-2.
- 24. MINSA/DIGESA. Norma Técnica de Salud: "Gestión y Manejo de Residuos Sólidos en Establecimientos de Salud y Servicios Médicos de Apoyo a nivel Nacional "Documento en proyecto-No citar, No reproducir-TSC. Norma Tec Salud Nº Nº 096- MINSA/DIGESA-V01. 2010;1:63.
- 25. OMS. Limpieza y desinfección de las superficies del entorno inmediato en el marco de la COVID-19. Organ Mund la salud [Internet]. 2020;1-3. Disponible en: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/332168/WHO-2019-nCoV-Disinfection-2020.1-spa.pdf

ANEXOS

Anexo A. Operacionalización de variables

| VARIABLE INDEPENDIENTE | DIMENSIONES | TIPO | ESCALA | INDICADORES | UNIDAD DE MEDIDA/PUNTO DE CORTE |
|---|--------------------|--------------|---------|--|---|
| Extracto etanólico de Datura stramonium (Chamico) | Concentración | Cuantitativo | Ordinal | 100% 75% 50% | Porcentaje |
| Extracto etanólico de Allium sativum (Ajo) | Concentración | Cuantitativo | Ordinal | 100% 75% 50% | Porcentaje |
| VARIABLE DEPENDIENTE | DIMENSIONES | TIPO | ESCALA | INDICADORES | UNIDAD DE MEDIDA/PUNTO DE CORTE |
| Efecto antibacteriano | Halo de inhibición | Cuantitativo | Ordinal | ≤ 8mm 8mm a 14mm 15mm a 20mm > a 20mm | Nula Sensible Medio Muy sensible |

Anexo B. Recolección de datos

| | CONTRO | DLES | Extracto I | Etanólico - | - Chamico | Extracto | o Etanóli | co - Ajo |
|-------|---------|--------|------------|-------------|-----------|----------|-----------|----------|
| Placa | СР | CN | 50% | 75% | 100% | 50% | 75% | 100% |
| | SMT+TMP | Etanol | (mm) | (mm) | (mm) | (mm) | (mm) | (mm) |
| 1 | 21,5 | 6,0 | 6,0 | 6,2 | 5,9 | 10,6 | 16,9 | 20,6 |
| 2 | 21,1 | 6,1 | 6,1 | 6,0 | 6,1 | 10,9 | 17,0 | 20,3 |
| 3 | 21,5 | 6,1 | 6,1 | 6,1 | 6,1 | 10,5 | 17,4 | 20,5 |
| 4 | 21,3 | 6,1 | 6,1 | 6,1 | 6,2 | 10,8 | 16,9 | 20,3 |
| 5 | 21,3 | 6,3 | 6,2 | 6,2 | 6,2 | 10,7 | 17,0 | 20,6 |
| 6 | 21,3 | 6,2 | 6,2 | 6,1 | 6,2 | 10,9 | 17,0 | 20,7 |
| 7 | 21,4 | 6,5 | 6,4 | 6,2 | 6,3 | 10,7 | 17,1 | 20,6 |
| 8 | 21,8 | 6,0 | 6,4 | 6,1 | 6,3 | 10,5 | 16,9 | 20,7 |
| 9 | 21,2 | 6,1 | 6,5 | 5,8 | 6,3 | 10,5 | 17,2 | 20,2 |
| 10 | 21,3 | 6,1 | 6,5 | 6,2 | 6,3 | 11,0 | 17,1 | 20,6 |
| 11 | 21,5 | 6,2 | 6,6 | 6,2 | 6,3 | 10,7 | 17,5 | 20,5 |
| 12 | 21,3 | 6,2 | 6,6 | 6,3 | 6,4 | 10,4 | 17,2 | 20,2 |
| 13 | 21,5 | 6,2 | 6,6 | 6,4 | 6,4 | 10,8 | 17,0 | 20,1 |
| 14 | 21,7 | 6,2 | 6,4 | 6,2 | 6,5 | 10,5 | 17,3 | 20,4 |
| 15 | 21,3 | 6,2 | 6,6 | 6,6 | 6,6 | 10,5 | 17,5 | 20,3 |
| 16 | 21,5 | 6,0 | 6,0 | 6,2 | 5,9 | 10,6 | 16,9 | 20,6 |
| 17 | 21,1 | 6,1 | 6,1 | 6,0 | 6,1 | 10,9 | 17,0 | 20,3 |
| 18 | 21,5 | 6,1 | 6,1 | 6,1 | 6,1 | 10,5 | 17,4 | 20,5 |
| 19 | 21,3 | 6,1 | 6,1 | 6,1 | 6,2 | 10,8 | 16,9 | 20,3 |
| 20 | 21,3 | 6,3 | 6,2 | 6,2 | 6,2 | 10,7 | 17,0 | 20,6 |
| 21 | 21,3 | 6,2 | 6,2 | 6,1 | 6,2 | 10,9 | 17,0 | 20,7 |
| 22 | 21,4 | 6,5 | 6,4 | 6,2 | 6,3 | 10,7 | 17,1 | 20,6 |
| 23 | 21,8 | 6,0 | 6,4 | 6,1 | 6,3 | 10,5 | 16,9 | 20,7 |
| 24 | 21,2 | 6,1 | 6,5 | 5,8 | 6,3 | 10,5 | | 20,2 |
| 25 | 21,3 | 6,1 | 6,5 | 6,2 | 6,3 | 11,0 | 17,1 | 20,6 |
| 26 | 21,5 | 6,2 | 6,6 | 6,2 | 6,3 | 10,7 | 17,5 | 20,5 |
| 27 | 21,3 | 6,2 | 6,6 | 6,3 | 6,4 | 10,4 | 17,2 | 20,2 |
| 28 | 21,5 | 6,2 | 6,6 | 6,4 | 6,4 | 10,8 | 17,0 | 20,1 |
| 29 | 21,7 | 6,2 | 6,4 | 6,2 | 6,5 | 10,5 | 17,3 | 20,4 |
| 30 | 21,3 | 6,2 | 6,6 | 6,6 | 6,6 | 10,5 | 17,5 | 20,3 |

Anexo C. Clasificación taxonómica de especie vegetal



HERBARIO PEDRO RUIZ GALLO



UNIVERSIDAD NACIONAL PEDRO RUIZ GALLO FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

CONSTANCIA

LA DIRECTORA DEL HERBARIO PRG DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL PEDRO RUIZ GALLO, QUE SUSCRIBE,

Hace constar:

Que, la señorita Maribel Clarisa Requejo Ramos y el señor Jorge Luis Callao Rodríguez, tesistas de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad María Auxiliadora - UMA - Lima, ha hecho llegar al Herbario PRG 2 muestra botánica como parte de su investigación científica Actividad antimicrobiana "in vitro" del extracto etanólico de Chamico y Ajo sobre Staphylococcus aureus ATCC 25923, las que han sido revisadas e identificadas como Datura stramonium L. (Chamico), perteneciente a la familia Solanaceae Juss. y Allium sativum L. (Ajo), perteneciente a la familia Amarylidaceae J. St-Hil

Lambayeque, 30 de enero del 2020

MSc. Josefa Escurra Pulcon

Anexo D. Certificado de análisis de Staphylococcus aureus ATCC 25923



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

Specifications
Microorganism Name: Staphylococcus aureus subsp. aureus
Catalog Number: 0360
Lot Number: 360-407**
Reference Number: ATCC® 25923™*

Purity: Pure

Passage from Reference: 3

Expiration Date: 2021/8/31 Release Information: Quality Control Technologist: Kieshia L Negen

Release Date: 2018/9/11

| Performance | |
|--|---|
| Macroscopic Features: | Medium: |
| Medium to large, convex, entire edge, both white and pale white colonies, smooth, opaque, beta hemolytic | SBAP |
| Microscopic Features: | Method: |
| Gram positive cocci occurring singly, in pairs and in irregular clusters | Gram Stain (1) |
| ID System: MALDI-TOF (1) See attached ID System results document. | Other Features/ Challenges: Results (1) Catalase (3% Hydrogen Peroxide): positive (1) Coagulase (rabbit plasma - tube): positive (1) Beta Lactamase (Cefinase Disk): negative (1) Ampicillin (10 mog - Disk Susceptibility): 27 - 35 mm (1) Penicillin (10 units - Disk Susceptibility): 26 - 37 mm (1) Oxacillin (1 mog - Disk Susceptibility): 18 - 24 mm |
| | Amanda Kupeus Quality Control Manager |
| | AUTHORIZED SIGNATURE |
| "Disclaimer: The last digit(s) of the lot number appearing on the product label and packing slip | are merely a packaging event number. The lot number displayed on this |

certificate is the actual base lot number.

Note for Vitek®: 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.

Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazardicatety information.

products are traceable to a recognized outture collection.





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



© 2012 Microbiologics, Inc. All Rights Reserved. 200 Cooper Avenue North Saint Cloud, MN 56303 Page 1 of 1

DOC 286

Bruker Daltonik MALDI Biotyper Classification Results



Meaning of Score Values

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

Meaning of Consistency Categories (A - C)

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

Sample Name: Staphylococcus aureus subsp. aureus

Sample Description: 0360 Sample ID: 360-407

Sample Creation Date/Time: 2018-09-05T12:23:16.417 MLB

Applied MSP Library(les): BDAL, Mycobacteria Library (bead method), Filamentous Fungi Library 1.0, Listeria

| Sample Name | Sample ID | Organism (best match) | Score Value |
|------------------|-----------|-----------------------|-------------|
| E12 (+++) (A) | 360-407 | Staphylococcus aureus | 2.34 |

Comments:

| N/A | | | |
|-----|--|--|--|
| 1 | | | |

Anexo E. Autorización escrita para la recolección de la muestra vegetal "ajo"

Zaña, 15 de enero del 2020

Señor

BERNARDINO COLCHADO POZO

Propietario Fundo Santo Toribio San Carlos

Zaña - Chiclayo.

Asunto: Autorización para recolección de toma de muestra vegetal Ajo (Allium sativum).

BERNARDINO COLCHADO POZO, con DNI 16697942, propietario del Fundo Santo Toribio San Carlos, de la ciudad de Zaña, Chiclayo, Lambayeque autorizo a la señorita Maribel Clarisa Requejo Ramos y al señor Jorge Luis Callao Rodríguez, tesistas de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad María Auxiliadora UMA – LIMA, para la recolección de la toma de muestra vegetal Ajo (Allium sativum), necesaria para llevar a cabo la investigación científica "Actividad antimicrobiana "in vitro" del extracto etanólico de Chamico y Ajo sobre Staphylococcus aureus ATCC 25923".

Gracias por la atención prestada.

Atentamente

BERNARDINO COLCHADO POZO

FUNDO SANTO TORIBIO SAN CARLOS

PROPIETARIO

DNI 16697942

Anexo F. Autorización escrita para la recolección de la muestra vegetal "chamico"



Motupillo 15 de enero de 2020

DANIEL MEDINA BURGA

Juez de paz del centro poblado de Motupillo Pitipo-Ferreñafe-Lambayegue.

Asunto: Autorización para la recolección de toma de muestra vegetal de la planta silvestre Datura stramonium (Chamico).

Con Nro. De DNI: 18689958, bajo el cargo de juez de paz del centro poblado menor Motupillo -Pitipo-Ferreñafe-Lambayeque, autorizo a la Srta. Maribel Clarisa Requejo Ramos y Jorge Luis Callao Rodríguez, ambos bachilleres tesistas de la universidad Maria Auxiliadora-Lima: escuela de Farmacia y Bioquímica de la facultad de Medicina Humana; para la recolección de la muestra vegetal de Datura stramonium (chamico), necesaria para llevar a cabo su trabajo de investigación científica titulada: "Actividad antibacteriana in vitro del extracto etanólico de Datura stramonium (chamico) y Allium sativum (ajo) sobre staphylococcus aureus ATCC 25923"

Gracias por la atención prestada:

Atentamente



Anexo G. Evidencias fotográficas del trabajo de campo



Figura 2: Datura stramonium L. "Chamico" recolectado en el Centro poblado de Motupillo.



Figura 3: Bulbos de "Ajo" recolectado en Fundo Santo Toribio, San Carlos, Zaña, Chiclayo.



Figura 4: Muestra de Chamico recolectada para identificación taxonómica



Figura 5: Secado de muestras vegetales



Figura 6: Extractos etanólicos de ajo y chamico



Figura 7: Activación de la cepa de Staphylococcus ATCC 25923



Figura 8. Preparación del inóculo de trabajo a escala 0.5 Mc Farland.



Figura 9. a) Preparación de discos con extractos b) Sembrado del inóculo en placas



Figura 10. Incubación de placas con Staphylococcus aureus



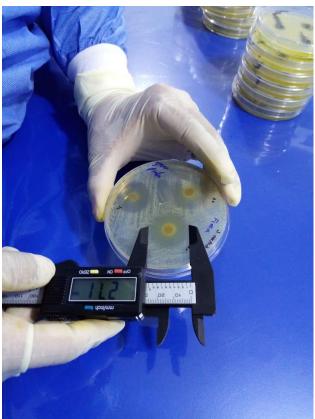


Figura 11. Lectura de datos