



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

**ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA *In Vitro* DEL EXTRACTO
ETANÓLICO DE LAS HOJAS DE *Muehlenbeckia
volcanica* (benth.) Endl. (Mullaca) FRENTE A
Porphyromonas gingivalis ATCC 33277**

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE QUÍMICO
FARMACÉUTICO

AUTORES

Bach. BASURTO LAREDO, MAGALY BEATRIZ

<https://orcid.org/0000-0003-4781-2463>

Bach. CCAHUANA LOAYZA, LERROUX MARGOT

<https://orcid.org/0000-0003-2659-4057>

ASESOR

Mg. GIRALDO BARDALAMA, LEONARDO JESUS

<https://orcid.org/0000-0001-9953-0957>

Lima – Perú

2023

AUTORIZACIÓN Y DECLARACIÓN JURADA DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD

Yo, Magaly Beatriz Basurto Laredo, con DNI 70778534, en mi condición de autor(a) de la tesis/ trabajo de investigación/ trabajo académico presentada para optar el Título Profesional de QUÍMICO FARMACÉUTICO, de título "ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA *In Vitro* DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS HOJAS DE *Muehlenbeckia volcanica* (benth.) Endl. (Mullaca) FRENTE A *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277", AUTORIZO a la Universidad María Auxiliadora (UMA) para reproducir y publicar de manera permanente e indefinida en su repositorio institucional, bajo la modalidad de acceso abierto, el archivo digital que estoy entregando, en cumplimiento a la Ley N°30035 que regula el Repositorio Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación de acceso abierto y su respectivo Reglamento.

Asimismo, DECLARO BAJO JURAMENTO¹ que dicho documento es ORIGINAL con un porcentaje de similitud de DIECIOCHO POR CIENTO (18%) y que se han respetado los derechos de autor en la elaboración del mismo. Además, recalcar que se está entregado la versión final del documento sustentado y aprobado por el jurado evaluador.

En señal de conformidad con lo autorizado y declarado, firmo el presente documento a los 26 días del mes de noviembre del año 2022.



Magaly Beatriz Basurto Laredo
70778534



Leonardo J. Giraldo Bardalama
10728715

1. Apellidos y Nombres
2. DNI
3. Grado o Título profesional
4. Título del trabajo de investigación
5. Porcentaje de similitud

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

AUTORIZACIÓN Y DECLARACIÓN JURADA DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD

Yo, Lerroux Margot, Ccahuana Loayza, con DNI 46871052, en mi condición de autor(a) de la tesis/ trabajo de investigación/ trabajo académico presentada para optar el Título Profesional de QUÍMICO FARMACÉUTICO, de título "ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA *In Vitro* DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS HOJAS DE *Muehlenbeckia volcanica* (benth.) Endl. (Mullaca) FRENTE A *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277", AUTORIZO a la Universidad María Auxiliadora (UMA) para reproducir y publicar de manera permanente e indefinida en su repositorio institucional, bajo la modalidad de acceso abierto, el archivo digital que estoy entregando, en cumplimiento a la Ley N°30035 que regula el Repositorio Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación de acceso abierto y su respectivo Reglamento.

Asimismo, DECLARO BAJO JURAMENTO² que dicho documento es ORIGINAL con un porcentaje de similitud de DIECIOCHO POR CIENTO (18%) y que se han respetado los derechos de autor en la elaboración del mismo. Además, recalcar que se está entregado la versión final del documento sustentado y aprobado por el jurado evaluador.

En señal de conformidad con lo autorizado y declarado, firmo el presente documento a los 26 días del mes de noviembre del año 2022.



Lerroux Margot Ccahuana Loayza
46871052



Leonardo J. Giraldo Bardalama
10728715

1. Apellidos y Nombres
2. DNI
3. Grado o Título profesional
4. Título del trabajo de investigación
5. Porcentaje de similitud

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

INFORME DE ORIGINALIDAD – TURNITIN

ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA In Vitro DEL EXTRACTO
ETANÓLICO DE LAS HOJAS DE Muehlenbeckia volcanica
(benth.) Endl. (Mullaca) FRENTE A Porphyromonas gingivalis
ATCC 33277

INFORME DE ORIGINALIDAD

18%

INDICE DE SIMILITUD

18%

FUENTES DE INTERNET

3%

PUBLICACIONES

6%

TRABAJOS DEL
ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1

repositorio.uma.edu.pe

Fuente de Internet

11%

2

repositorio.uigv.edu.pe

Fuente de Internet

3%

3

hdl.handle.net

Fuente de Internet

2%

4

Submitted to Universidad Maria Auxiliadora
SAC

Trabajo del estudiante

1%

5

repositorio.uoosevelt.edu.pe

Fuente de Internet

1%

Excluir citas

Activo

Excluir coincidencias < 1%

Excluir bibliografía

Activo

DEDICATORIA

Al forjador de mi camino, padre celestial Dios, que me acompaña siempre en cada tropiezo y logros que tengo.

A mis padres (Egipcia y Pedro) por haberme hecho hija de bien, a mi hermano (Wilmer) y toda mi familia, este logro lo debo a ellos, ya que me formaron con valores y responsabilidades, al final que me motivaron con en el desarrollo de nuestra investigación.

Basurto Laredo, Magaly Beatriz.

Esta tesis se rinde homenaje a Dios, el creador del universo, a mi madre (Norma) y a mis hermanos (Erika y Junior) por su apoyo incondicional durante todo este proceso. Les agradezco por inspirar en mí el modelo de esfuerzo, fe, valentía y por enseñarme a no tener miedo de las adversidades, ya que Dios siempre está conmigo.

Ccahuana Loayza, Lerroux Margot.

AGRADECIMIENTO

Agradecemos a Dios por la dicha de ser hijos responsables y con muchos valores, por las bendiciones que hemos tenido en este trayecto de formación profesional y que siga guiando nuestros caminos para cosechar más logros en el futuro.

A la Universidad María Auxiliadora, nuestra casa de estudios, por inculcarnos valores que nos ayudarán a contribuir en el servicio de la sociedad y así mejorar profesionalmente.

A nuestros docentes, por habernos impartido su sabiduría, experiencias, conocimientos durante el trayecto de nuestra formación universitaria, por ser de nosotros unos profesionales químicos farmacéuticos con perfil de líder, gestor, comunicadoras y sociable.

A nuestro asesor Mg. Giraldo Leonardo, por instruirnos en la revisión de cada proceso de la tesis, por motivarnos a seguir en cada obstáculo que se nos presentaba, por ser constante y estricto. Te agradecemos por impartirnos tu sabiduría, guía continua y profesional para culminar dicha tesis.

A nuestros familiares y amigos que nos han apoyado incondicionalmente mediante consejos, experiencias durante la vida universitaria.

Índice general

DEDICATORIA.....	iv
AGRADECIMIENTO.....	v
Índice general.....	vi
Índice de figuras.....	vii
Índice de Tablas.....	viii
Índice de Anexos.....	ix
RESUMEN	x
ABSTRACT	xi
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. MATERIALES Y MÉTODOS	6
III. RESULTADOS	12
IV. DISCUSIÓN.....	16
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	21
ANEXOS	24

Índice de figuras

Figura 1. Ubicación De La Muestra	36
Figura 2. Recolección De La Muestra	36
Figura 3. Selección De La Muestra	37
Figura 4. Procedimiento De Lavado De La Muestra.....	37
Figura 5. Procedimiento De Secado De La Muestra	37
Figura 6. Procedimiento De Molienda De La Muestra.....	38
Figura 7. Procedimiento De Filtración Del Macerado Del Extracto Etanólico.....	38
Figura 8. Obtención Del Extracto Seco	38
Figura 9. Resultado Del Ensayo De Solubilidad.....	39
Figura 10. Procedimiento Del Tamizaje Fitoquímico	39
Figura 11. Preparación De Medio De Cultivo	39
Figura 12. Activación De La Cepa.....	40
Figura 13. Preparación De Los Discos De Sensibilidad	40
Figura 14. Colocación De Discos	40
Figura 15. Incubación.....	41
Figura 16. Lectura De Resultados.....	41

Índice de Tablas

Tabla 1: Tamizaje Fitoquímico.....	9
Tabla 2: Ensayo De Solubilidad.....	12
Tabla 3: Tamizaje Fitoquímico De Metabolitos Secundarios	12
Tabla 4: Halos De Inhibición De Ensayo Microbiológico En <i>Porphyromonas Gingivalis</i>	13
Tabla 5: Análisis De Varianza.....	14
Tabla 6: Comparaciones Múltiples Por La Prueba De Tukey	15

Índice de Anexos

Anexo A. Instrumento De Recolección De Datos.....	25
Anexo B. Operacionalización De Variables.....	26
Anexo C. Certificado Taxonómico	27
Anexo D. Informe De Análisis De Laboratorio	28
Anexo E. Certificado De Agar Mueller Hinton	29
Anexo F. Certificado De Análisis De Cepa <i>Porphyromonas Gingivalis</i>	33
Anexo G. Carta Emitida De La Universidad María Auxiliadora Al Jefe De Laboratorio.....	34
Anexo H. Constancia De Aceptación Por El Jefe Del Laboratorio Santa Rosa E.I.R.L	35
Anexo I. Evidencias Fotográficas.....	36

RESUMEN

Objetivo: Determinar la actividad antibacteriana *in vitro* del extracto etanólico de las hojas de *Muehlenbeckia Volcánica* (benth) Endl (Mullaca). frente a *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277.

Materiales y Métodos: enfoque cuantitativo, experimental, analítico. Se utilizaron hojas de *Muehlenbeckia volcanica* (benth.) Endl. (Mullaca) de Piticha, y cepa de *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277. Así mismo, la muestra estuvo compuesta por 3kg de hojas. En marcha fitoquímica, se utilizó 0.25 mL en 12 tubos de ensayos y el análisis microbiológico fue la difusión de agar en disco y grupos experimentales del 25 %, 50% y 90%, control Gluconato de Clorhexidina 0,12 % y Etanol 96°.

Resultado: A nivel de química de los compuestos de las hojas, se encontró la presencia de compuestos fenólicos, alcaloides, saponinas y taninos. Se realizó un análisis estadístico con la prueba de ANOVA ($p < 0,05$) y Tukey, y se observó diferencia significativa entre los grupos experimentales al 25%, 50%, 90% y etanol 96° sobre *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277.

Conclusiones: El extracto etanólico de las hojas de *Muehlenbeckia volcanica* (benth.) Endl. (Mullaca) presenta actividad antibacteriana frente a *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277.

Palabras claves: *Muehlenbeckia volcanica* (benth.) Endl; antibacteriano; extracto etanólico.

ABSTRACT

Objective: To determine the in vitro antibacterial activity of the ethanolic extract of the leaves of *Muehlenbeckia Volcánica* (benth) Endl (Mullaca). against *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277.

Materials and Methods: quantitative, experimental, analytical approach. Leaves of *Muehlenbeckia volcanica* (benth.) were used. Endl. (Mullaca) of Piticha, and strain of *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277. Likewise, the sample was composed of 3kg of leaves. In phytochemical progress, 0.25 mL was used in 12 test tubes and the microbiological analysis was the diffusion of agar in disk and experimental groups of 25%, 50% and 90%, control Chlorhexidine gluconate 0.12% and Ethanol 96°.

Result: At the level of chemistry of the compounds of the leaves, the presence of phenolic compounds, alkaloids, saponins and tannins was found. A statistical analysis was performed with the ANOVA test ($p < 0.05$) and Tukey, and a significant difference was observed between the experimental groups at 25%, 50%, 90% and ethanol 96° on *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277.

Conclusions: The ethanolic extract of the leaves of *Muehlenbeckia volcanica* (benth.) Endl. (Mullaca) has antibacterial activity against *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277.

Keywords: *Muehlenbeckia volcanica* (benth.) Endl; antibacterial; ethanolic extract.

I. INTRODUCCIÓN

La cavidad oral, caracterizada por su temperatura y humedad, brinda un ambiente propicio para el desarrollo y la colonización bacteriana de manera recurrente¹; por ello, los motivos de las enfermedades periodontales son las malas praxis de limpieza bucal, de lengua y mejillas^{3,4}; creando un ambiente donde se acumula este tipo de bacterias como la *P. gingivalis*, *Tannerella forsythia* y *Treponema denticola*^{5,6}, siendo la periodontitis una de las enfermedades más severas que afecta a más del 10% de la población mundial⁶⁻⁹. Esta prevalencia va aumentando con la edad y conlleva un gran impacto social y económico en las prestaciones sanitarias¹⁰.

Según la OMS a nivel mundial la periodontitis agresiva, afecta a un 5%-20% de los adultos entre 30 y 60 años de edad. Mientras que en México es una de las enfermedades principales que afecta en su población, resultando en pérdidas de piezas dentales en fases terminales¹¹. En países como Estados Unidos y Nueva Zelanda, existen estudios donde se encontraron que *P. gingivalis* en una periodontitis crónica, conllevó a factores de riesgo significativos en el desarrollo de placas amiloide β , demencia y enfermedad de Alzheimer¹². A nivel de América del Sur, la prevalencia de este patógeno con mayor incidencia se reportó en Colombia un 80% con juntamente con otro patógeno, dándose una menor incidencia en Brasil con un 26.7% de casos¹³. Sin embargo, en nuestro país en el año 2018 la prevalencia de enfermedades por *P. gingivalis* en personas es de un 85%¹⁴. En la ciudad de Lima se reporta un 70.91% de prevalencia de enfermedades periodontales, siendo el 47,18% y 23,73% a gingivitis y periodontitis, respectivamente; esto se debe a los hábitos de fumar, tratamientos de ortodoncia, constancia de cepillado, uso de cepillos interproximal y enjuagues bucales, según (Horna P.)¹⁵.

Es así, que hoy en día se da más énfasis al uso de la fitoterapia, tal es así, en la región de Ayacucho se usan de modo tradicional una gran diversidad de flora como la Mullaca, para tratar la fiebre, asma, bronquitis, alergia, aftas, gastritis y rinofaringitis^{16,17,18}, pero carece de información de efectos en bacterias, por ello es importante continuar con la investigación de nuevas alternativas para contribuir y dar solución a este problema que afecta a la humanidad.

El efecto antibacteriano de la Mullaca frente a *Porphyromonas gingivalis* es una acción terapéutica, que tiene un determinado compuesto químico para detener el crecimiento de la bacteria,^{19,20} *P. gingivalis* tiene forma de bacilo o cocobacilo, anaerobia estricta, Gram negativa de la familia Porphyromonadaceae¹². El ensayo microbiológico consiste en depositar el extracto de las hojas de Mullaca a diferentes concentraciones; dentro de los pozos de una placa con agar previamente sembrado con *P. gingivalis*.^{14,15,20} Los principales factores de virulencia son las gingipaínas, desarrollando una colonización, donde se inactiva el sistema inmunitario y se disemina a otras partes del sistema^{12,9}, originando una respuesta inflamatoria crónica donde destruye tejidos periodontales y el hueso alveolar¹⁵, estas conllevan a enfermedades como la periodontitis agresiva y crónica^{12,9}. La inhibición del crecimiento de la bacteria es de naturaleza cuantitativa, se mide el desarrollo del patógeno, cuando el valor sea el más pequeño, mayor actividad antibacteriana tiene la sustancia y esto se puede evaluar por diferentes métodos según Melendez.¹¹

La Mullaca pertenece a la familia Polygonaceae, son hierbas anuales, sub-arbustos rastreros, silvestre, su hábitat es un clima templado, terrenos volcánicos y rocosas, crece entre 1500 a 4500 msnm.^{18,19, 20}. Los procesos fisicoquímico son técnicas gravimétricas, de mineralización de la muestra que determina los parámetros fisicoquímicos de una especie vegetal para identificar, de manera cualitativa, sus fitoconstituyentes mediante reacciones químicas que forman un producto insoluble y/o coloreado.^{14,18} Procesos fitoquímicos, son ensayos que se realiza para determinar metabolitos secundarios, según estudios refieren que la Mullaca presenta mucílagos, goma, glucósidos, sustancias pépticas, taninos, saponinas.²¹; también contiene rutina, emodina, ácido crisofánico, glicósidos antraquinónicos, ceras, reninas, lectinas, almidones, celulosa, flavonoides prenilados y fenoles según **(Agapito F. 2005)¹⁷; (Lock O. 2004)²²**.

En el mercado actual existen diferentes métodos para el tratamiento de la periodontitis, esto depende del avance de dicha enfermedad, por ejemplo, la limpieza dental, legrado y cirugía periodontal, entre otros, estos procedimientos tienen como coadyuvantes a diversos antisépticos orales, siendo el gluconato de clorhexidina el más usado, pero este ocasiona reacciones adversas como

reacciones alérgicas, descamación de la mucosa, disgeusia y manchas en los dientes; por ello se han basado en estudios de nuevas alternativas de tratamientos para la periodontitis con menos efectos adversos y de carácter natural y bajo costo. Teniendo como base a fuentes de la naturaleza, Ayacucho posee una gran variedad de plantas medicinales en la cual encontramos a la Mullaca con muchas propiedades farmacológicas, este puede ser una alternativa nueva para tratar la enfermedad periodontal de aquellos pacientes que la padecen.¹⁴

Carrol, D et al. (2020) en su investigación realizada en Estados Unidos, quienes evaluaron la actividad antibacteriana de diferentes plantas medicinales frente a *P. gingivalis*, en los resultados se observó que tenían una inhibición superior al 90% sobre *P. gingivalis* a 64 µg/mL y fueron seleccionados adicionalmente para ensayos de CMI (Concentración Mínima Inhibidora). Se concluye que un producto potencial de estos resultados podría ser el desarrollo de un enjuague bucal que incluya los extractos probados y/o fracciones de estos extractos.²³

Crucerira, D (2020) en su investigación realizada en Quito, quien evaluó la acción biológica del extracto de *Muehlenbeckia tamnifolia* (Kunth) Meisn basado en su uso etnobotánico. En los resultados manifestaron que el extracto seco de angoyuyo tiene actividad antimicrobiana y antimicótica, siendo *Staphylococcus aureus* el microorganismo más sensible con una inhibición del 40%. Se concluye que, la especie angoyuyo utilizada en el extracto tiene actividad antimicrobiana y antimicótica frente a *E. coli*, *S. aureus* ATCC 25923 y *Candida albicans* ATCC 10231.²⁴

Tamariz, C et al. (2018) quienes en su investigación realizada en Chile determinaron la actividad antimicrobiana y actividad antioxidante sobre diferentes tipos de bacterias y hongos. En los resultados se apreció que, de estas plantas, 27 mostraron actividad antibacteriana, 4 mostraron actividad anti-Candida y 4 actividad antioxidante. Algunas de las plantas con actividad biológica promisorias incluyen *Oreocallis grandiflora*, *Gentianella weberbaueri*, *Muehlenbeckia volcanica*, y *Oenothera multicaulis*, contienen compuestos como alcaloides, compuestos fenólicos y flavonoides. Se concluye que este estudio demuestra el potencial

medicinal de estas plantas y se requieren más investigaciones para su conservación y uso sostenible. ²⁵

Lagos, D y Quinto, R (2018) en su investigación determinaron la actividad antibacteriana del extracto etanólico de hojas de *Muehlenbeckia volcanica* (Benth.) Endl. (mullaca) frente *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, en los resultados se observó la actividad antibacteriana del 33%, en el extracto etanólico del grupo experimental al 50 % y del 100%, se observó una actividad antibacteriana del 41,02% y 52,53%, se concluye que las hojas de Mullaca al grupo experimental del 100% frente al *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 hace una diferencia antibacteriana superior. ²⁶

Ferchau, V et al (2021) Esta investigación evaluó la actividad antibacteriana de cinco especies de plantas en Cusco, entre ellas *Muehlenbeckia volcanica*. Los resultados mostraron que Queto-Queto y Mullaca tienen actividad antibacteriana contra tres cepas de bacterias, mientras que Matico actúa contra dos. Estrella Kisca y Muña son efectivas contra dos cepas de bacterias. La Estrella Kisca y Queto-Queto fueron los más tóxicos, mientras que Muña, Mullaca y Matico fueron moderadamente tóxicos. Se concluye que los extractos etanólicos tienen actividad antibacteriana. ²⁷

Palpa, D y Fernandez, C (2020) Este estudio determinó el efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Muehlenbeckia tamnifolia* contra cepas de *S. aureus* y *S. epidermidis* en concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100%. La fitoquímica identificó la presencia de flavonoides, taninos, compuestos fenólicos y alcaloides. Se concluye que se encontró que la concentración al 100% tuvo el mayor efecto antibacteriano, aunque fue menor en comparación con gentamicina.

²⁸

La finalidad de la investigación es conocer la actividad antibacteriana de Mullaca, y aportar de forma tecnológica y científica. También se pretende contribuir como alternativa terapéutica sobre las afecciones de la *P. gingivalis* por diversas causas que acarrea en la población. Como justificación práctica, contribuir con la batalla de

las resistencias bacteriana que se dan hoy en día de manera progresiva, y que muchas veces no se logra la recuperación de pacientes con enfermedades periodontales. Por último, en cuanto a la metodología, los ensayos fitoquímicos, fisicoquímico y microbiológico, los resultados obtenidos conllevarán al desarrollo en animales de experimentación y así dar un aporte a la salud y las mismas futuras investigaciones.

El objetivo general del estudio es precisar la actividad antibacteriana in vitro del extracto etanólico de las hojas de *Muehlenbeckia Volcánica* (benth) Endl (Mullaca). frente a *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277.

Hipótesis general es:

- El extracto etanólico de las hojas de *Muehlenbeckia volcanica* (benth.) Endl. (Mullaca), presenta efecto antibacteriano en cepas de *Porphyromonas gingivalis*, in vitro.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Enfoque y diseño de la investigación

El enfoque fue cuantitativo, y se utilizó un diseño experimental para la investigación. Además, se llevó a cabo un estudio analítico.

Cuantitativo, se debe a los resultados que se mostraron por mediciones numéricas.²³ Experimental, ya que se manipuló la variable independiente para evaluar su impacto en la variable dependiente. Se utilizó para evaluar la actividad y efectividad terapéutica.²⁹

2.2. Población, muestra y muestreo

10 kilos de hojas y tallos de *Muehlenbeckia volcanica* (benth.) Endl. (Mullaca) obtenidas en la comunidad de Piticha, distrito de Huamanguilla, provincia de Huanta, región Ayacucho a 3276 m.s.n.m. Se utilizó cepas de *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 de la marca Microbiologics, en forma de KWIK-STIK.

La muestra vegetal estuvo conformada por 3 kilos de hojas *Muehlenbeckia volcanica* (benth.) Endl. (Mullaca).

Criterios de inclusión:

- Hojas libres de hongos, bacterias y limpias.
- Bacterias de *P. gingivalis* ATCC 33277 con la capacidad de proliferar.

Criterios de exclusión:

- Hojas malogradas por plagas, hongos o bacterias
- Bacterias de *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 que no tengan la capacidad de proliferar.

2.3. Variables de estudio

Independiente: Extracto etanólico de hojas de *Muehlenbeckia volcanica* (benth.) Endl. (Mullaca).

Dependiente: Actividad antibacteriana *in vitro* frente *Phorpyromonas gingivalis* ATCC 33277.

2.3.1. Definición conceptual

Independiente: Es un macerado donde el solvente es alcohol de 96°, que presenta metabolitos secundarios. La planta que se utilizó fue un arbusto rastrero, que forma matas de grandes extensiones³⁰.

Dependiente: Capacidad de una sustancia química para evitar el crecimiento o provocar la lisis de las bacterias³¹.

2.3.2. Definición operacional

Independiente: El ensayo de solubilidad se realizará con diferentes solventes y reactivos de diferente polaridad mientras que el ensayo fitoquímico será cualitativo preliminar.

Dependiente: La bacteria *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 fue cultivada en placas Petri con agar sangre. Se probaron diferentes concentraciones de la muestra experimental (25%, 50% y 90%)

2.4. Técnica e instrumento de recolección de datos

2.4.1. Técnica

La metodología que se utilizó es la observación y la técnica de procedimiento analítico de screening fitoquímico y el método de difusión de agar conocido como Kirby-Bauer.

2.4.2. Instrumento

Los instrumentos fueron unas fichas, donde se registró todos los resultados de cada muestra, la cual incluyó el grupo blanco etanol 96°, grupo control positivo Clorhexidina 0,12%; y los controles a experimentar (25%, 50% y 90%).

2.5. Proceso de la recolección de datos

2.5.1. Autorización y coordinaciones previas para la recolección de datos

Se realizó una solicitud, con el propósito de ejecutar todos los ensayos descritos en el proyecto de investigación, hacia la universidad María Auxiliadora.

2.5.2. Aplicación de instrumentos

a) Recolección de la muestra vegetal:

La especie vegetal se recolectó de la comunidad de Piticha, en el distrito Huamanguilla, provincia de Huanta, región Ayacucho a 3276 m.s.n.m. un aproximado de 10 kg, se utilizó tijeras esterilizadas, seguidamente fue almacenado en bolsas de papel y no se presionó o estrujó la muestra. Luego se procedió a lavar las hojas de la muestra con agua destilada para quitar la suciedad, se escurrió y se seleccionó las hojas adecuadas para investigación y las hojas en malas condiciones fueron descartadas y se obtuvo 3 kg de muestra de hojas de Mullaca. Seguidamente se puso en una estufa a 40°C por 48 horas. Al término de este proceso se procedió a triturar las hojas utilizando un mortero y pilón, donde la muestra molida peso 294 g. Para la preparación del extracto se utilizó la técnica de maceración dinámica, para ello se utilizó 170 g de muestra y 300 mL de etanol al 96° en un frasco ámbar con capacidad de 1L, el macerado se realizó por 14 días. Al finalizar este tiempo se procedió a filtrar el contenido con papel Whatman y se colocó en una placa petri, el cual fue llevado a la estufa durante 24 horas a 40° C.^{32,33} Y así se obtuvo el extracto seco que peso 8.21g.

Seguidamente se obtuvo el porcentaje de rendimiento, lo cual fue 2.79%, esto se halló con la siguiente fórmula:

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

Pf: gr extracto seco obtenido.

Pi: gr muestra molida.

b) La prueba de solubilidad

Para la prueba se utilizaron los solventes: éter de petróleo, Diclorometano, cloroformo, butanol, etanol, metanol, agua destilada.

c) Tamizaje fitoquímico

Se puso en marcha las reacciones de coloración y precipitado según descrito por Lock O. (2016).²⁸ se preparó 10 mL de extracto y se vertió 0.25 mL en 12 tubos de ensayo, luego se utilizaron los siguientes reactivos:

TABLA 1: Tamizaje Fitoquímico.

TUBO	METABOLITO	ENSAYOS	INTERPRETACIÓN
N° 1	Antraquinonas	Borotrager	Color rosado a rojo
N° 2	Compuestos fenólicos	Cloruro férrico	Color azul, verde o negro
N° 3	Terpenos y esteroides	Liebermann-Burchard	Verde, azul verdoso
N° 4	Alcaloides	Dragendorff	Color rojo a naranja
N° 5	Alcaloides	Mayer	Precipitado blanco amarillento
N° 6	Alcaloides	Wagner	Precipitado pardo oscuro rojizo a marrón
N° 7	Lactonas α,β -insaturadas	Baljet	Coloración o precipitado rojo
N° 8	Taninos	Gelatina	Precipitado blanco
N° 9	Taninos	Gelatina - sal	Precipitado blanco
N° 10	Antocianinas	NaOH 10%	Coloración café-anaranjado
N° 11	Saponinas	Espuma	Presencia de espuma de 1 cm aproximado.
N° 12	Flavonoides	Shinoda	Color rojo, rojo carmín, magenta, azul o verde.

d) Ensayo microbiológico:

Método: Se utilizó el método de difusión en pozos, el cual consistió en introducir diversas sustancias a evaluar en pozos perforados en la placa de agar inoculada.

- **Preparación del estándar 0.5 de McFarland:** Se preparó una solución de BaCl 0,048 M mediante la disolución de 0,499 g de esta sal en agua destilada en una fiola de 50 mL. Asimismo, se preparó una solución de H₂SO₄ 0,18 M utilizando 1,01 mL de H₂SO₄ conc. en fiola de 100 mL. Por último, se obtuvo el estándar mezclando 0,5 mL de la solución de cloruro de bario 0,048 M y 95,5 mL de la solución de ácido sulfúrico 0,18 M.

- **Preparación del medio de cultivo:** Se preparó el agar Mueller Hinton con 5% de sangre de carnero siguiendo instrucciones del fabricante. Se procedió a disolver 7.6 g de la base deshidratada en 200 mL de agua destilada, asegurándose de que se disolviera por completo. Luego, la mezcla se sometió a un proceso de esterilización en autoclave a una presión de 15 atmósferas y 121°C durante 15 minutos. Una vez finalizado el ciclo de autoclave, se permitió que el medio de cultivo se enfriara

gradualmente hasta alcanzar una temperatura de 45°C a 50°C. En ese momento, se añadió un 5% de sangre bovina estéril al medio, asegurándose de mezclarlo adecuadamente. Una vez mezclado, el medio de cultivo enriquecido se distribuyó uniformemente en placas Petri de tamaño estándar (90 x 15 mm).

- **Activación de *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277:** Se empleó el Kwik-stik, sosteniéndolo en posición vertical para liberar completamente su contenido líquido. A continuación, con un hisopo, se depositó la muestra en una placa de agar sangre y se incubó a 37°C en condiciones anaerobias durante 120 horas.

Preparación del inóculo: Para ello se utilizó suero fisiológico al 0,9 % hasta obtener la turbidez requerida, finalmente esta se ajustó y se validó de manera visual comparándola con el estándar 0,5 de McFarland.

Inoculación de placas: Se utilizó un hisopo para recoger una muestra de la suspensión, después de remover cualquier exceso de contenido al presionarlo contra el interior del tubo. La muestra fue luego aplicada sobre la superficie seca del agar Muller Hinton sangre, mediante técnica de estrías realizadas en tres direcciones diferentes y rotando la placa 60° cada vez para garantizar una distribución uniforme del inóculo. Las placas fueron etiquetadas previamente y luego se perforaron con un cuchillo de 6 mm de diámetro para crear los pozos.

Preparación de sustancias experimentales

Las sustancias experimentales fueron preparadas en diferentes concentraciones a partir del extracto seco. Luego, se agregaron 20 uL de cada una de estas sustancias, utilizando una micropipeta, en los pozos previamente realizados.

- Grupo experimental 1: 90%
- Grupo experimental 2: 50%
- Grupo experimental 3: 25%
- Grupo control positivo: Gluconato de Clorhexidina 0,12%
- Grupo control negativo: Etanol 96°

2.6. Métodos de análisis estadísticos

Los datos obtenidos en el experimento fueron analizados usando el programa SPSS 27. Se utilizó la estadística descriptiva para determinar si había una diferencia significativa entre los grupos experimentales.

2.7. Aspectos éticos

En esta investigación en el área de la fitofarmacología, se cumplieron los estándares de seguridad en el laboratorio de microbiología para garantizar la calidad de las muestras bacterianas, incluyendo la conservación apropiada de la temperatura y pH. Además, se emplearon equipos esterilizados y vestimenta apropiada para manejar las muestras, y se llevó a cabo una eliminación adecuada de las muestras microbiológicas para evitar daños al medio ambiente de acuerdo con las guías del Instituto Nacional de Salud.³⁴

III. RESULTADOS

3.1. Prueba de solubilidad

TABLA 2: Solubilidad

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

Fuente: Elaboración propia

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

El extracto obtenido de las hojas de *Muehlenbeckia volcanica* (benth.) Endl. (Mullaca) mostró una alta solubilidad en solventes alcohólicos como metanol y etanol.

3.2. Tamizaje fitoquímico

TABLA 3: Tamizaje fitoquímico

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

Fuente: Elaboración propia

Leyenda: (-): No se detecta; (+): poca presencia; (++): bastante presencia (+++): Abundante presencia

En la tabla 3 se evidencia la opulenta presencia de compuestos fenólicos, alcaloides y saponinas. Por otro lado, la mínima presencia de terpenos, lactonas α , β -insaturadas, antocianinas, taninos y flavonoides.

3.3. Ensayo microbiológico

TABLA 4: Halos de inhibición de ensayo microbiológico en *Porphyromonas gingivalis*

Microorganismo	Diámetros de inhibición en mm				
	90%	50%	25%	Clorhexidina 0.12%	Etanol 96°
<i>Porphyromonas gingivalis</i> ATCC 33277	15.21	13.11	11.52	20.35	6
	15.25	13.15	11.57	20.36	6
	15.20	13.10	11.50	20.32	6
	15.21	13.14	11.52	20.33	6
	15.19	13.14	11.44	20.28	6
	15.20	13.10	11.52	20.30	6
	15.21	13.15	11.50	20.34	6
	15.22	13.09	11.52	20.35	6
	15.20	13.14	11.50	20.30	6
	15.23	13.15	11.54	20.32	6
Media	15.21	13.13	11.51	20.32	6

Fuente: Elaboración propia

Se observa que la Clorhexidina 0.12% obtuvo el mayor diámetro de inhibición promedio con un valor de 20.32 mm frente a *Porphyromonas gingivalis* a comparación de los demás grupos en estudio.

TABLA 5: Análisis de varianza

ANOVA						
		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	Entre grupos	1094,988	4	273,747	512634,837	,000
	Dentro de grupos	,024	45	,001		
	Total	1095,012	49			

Fuente: Elaboración propia

En la tabla 5 se realizó el análisis de la Varianza (ANOVA) el cual es una fórmula estadística que se utiliza para comparar las varianzas entre las medias (o el promedio) de diferentes grupos, distribuidos en el extracto etanólico de las hojas de *Muehlenbeckia volcanica* (benth.) Endl. (Mullaca) al 25%, 50%, 90%, clorhexidina 0.12% y etanol 96°.

Además, los resultados del ensayo microbiológico muestran un valor de significancia bilateral asintótica de $p < 0.05$, que indica diferencias significativas entre los 5 grupos de estudio.

TABLA 6: Comparaciones múltiples por la prueba de Tukey

HSD Tukey							
(I) Grupo	(J) Grupo	Diferencia de medias (I-J)	Desv. Error	Sig.	Intervalo de confianza al 95%		
					Límite inferior	Límite superior	
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	Etanol 96°	14,32500*	,01033	,000	14,2956	14,3544	
	Clorhexidina 0.12%	25 %	8,81200*	,01033	,000	8,7826	8,8414
		50%	7,19800*	,01033	,000	7,1686	7,2274
		90%	5,11300*	,01033	,000	5,0836	5,1424
	Etanol 96°	Clorhexidina 0.12%	-14,32500*	,01033	,000	-14,3544	-14,2956
		25 %	-5,51300*	,01033	,000	-5,5424	-5,4836
		50%	-7,12700*	,01033	,000	-7,1564	-7,0976
		90%	-9,21200*	,01033	,000	-9,2414	-9,1826

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

Fuente: Elaboración propia.

Los resultados indican que hay una diferencia estadísticamente significativa en el ensayo microbiológico entre el grupo tratado con Clorhexidina y los otros grupos experimentales, favoreciendo al grupo tratado con Clorhexidina. Esto demuestra que los grupos experimentales al 25%, 50% y 90% no tienen el mismo efecto inhibitor que la Clorhexidina contra la cepa bacteriana *Porphyromonas gingivalis*. Además, se encontraron diferencias significativas entre los grupos experimentales y el grupo tratado con Etanol 96°, mostrando que estos grupos experimentales tienen actividad antibacteriana contra *Porphyromonas gingivalis*.

IV. DISCUSIÓN

4.1. Discusión de resultados

El primer ensayo fue la prueba de solubilidad, los resultados demostraron que el extracto etanólico de las hojas de *Muehlenbeckia volcanica* (benth.) Endl. (Mullaca) fue muy soluble en etanol, metanol, moderadamente soluble en butanol y poco soluble en diclorometano, el extracto presentó mayor afinidad por el metanol y etanol, los cuales son solventes muy apropiados para esta clase de agentes.

Según el primer objetivo específico, en el tamizaje fitoquímico se halló la presencia de compuestos fenólicos, alcaloides y saponinas, probables responsables de la actividad antibacteriana. Así mismo, el presente estudio se ajusta con la investigación de Carrol, D *et. al.* (2020) evaluaron la actividad antibacteriana de diferentes plantas medicinales frente a *P. gingivalis*, en la que realizaron el tamizaje fitoquímico, se encontró la presencia de taninos, alcaloides, flavonoides, triterpenos y/o esteroides, quinonas y saponinas²³. Esto demuestra que, a pesar de provenir de otros lugares de cosecha de la muestra, por pertenecer a la misma clase, poseen una composición fitoquímica similar, sirviendo estos resultados para asociar con los usos medicinales que fomenta en la población motivo de investigación. Además, los flavonoides obstruyen el movimiento del peptidoglicano transpeptidasa con el objetivo de cambiar la disposición de la pared celular. En consecuencia, la célula bacteriana no puede soportar la tensión osmótica interna de algún lugar en el rango de 5 y 20 atmosféricos, en la cual la tensión es adecuada para romper las células en el caso que las paredes celulares fuesen aniquiladas.

De igual manera concuerda con el estudio de Lagos D, y Quinto, R (2018), quienes determinaron que Mullaca tiene efecto antibacteriano sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 a concentraciones de 25 %, 50% y 100%, hallando alcaloides, aminoácidos, saponinas, taninos, quinonas y fenoles²⁶. Esto evidencia que en los alcaloides, un conjunto de compuestos nitrogenados, reaccionaron con los aminoácidos presentes en las paredes celulares y el ADN bacteriano. Los alcaloides actuaron como agentes antibacterianos al dañar el componente de peptidoglicano de las células, lo que resultó en la interrupción de la formación

adecuada de la capa de la pared y la subsiguiente muerte de las bacterias. Además, la mullaca posee propiedades antibacterianas que pueden ser utilizadas con fines médicos.

Según el segundo objetivo específico, respecto al ensayo microbiológico in vitro para evaluar el impacto antibacteriano del extracto etanólico a las concentraciones del 25 %, 50 % y 90 % frente a *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277, se evidenció que la concentración al 90 % presentó mayor actividad antibacteriana al contar con un valor promedio de inhibición de 15,21 mm. Asimismo se halló mediante el uso de técnicas estadísticas como ANOVA y el test de Tukey que las tres concentraciones utilizadas presentaron diferencias significativas ($p < 0,05$).

El mismo que coincide con la investigación de Palpa, D y Fernandez, C (2020) quienes determinaron la actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico de hojas de *Muehlenbeckia tamnifolia* contra cepas de *S. aureus* y *S. epidermidis*²⁵. Hallando que el extracto etanólico de *S. aureus* presentó actividad antibacteriana en *P. gingivalis*, percibiéndose una relación directamente proporcional entre el volumen/concentración y el efecto antibacteriano. Así mismo concuerda con el estudio de Melendez A, et al. (2016), quienes establecieron la actividad biológica del extracto metabólicos de *I. verum* y extracto acuoso de *C. verum* sobre *P. gingivalis*, obteniendo que el extracto de *C. verum* e *I. verum* inhibió el crecimiento in vitro de *P. gingivalis*, puntualizando que el extracto de *C. verum* e *I. verum* tuvo actividad biológica sobre *P. gingivalis*¹¹. Estas reacciones provocaron cambios en la estructura y composición de los aminoácidos, lo que resultó en alteraciones en el equilibrio genético en la cadena de ADN. Esto generó daños en la célula y promovió la lisis de las bacterias, llevando a su muerte. Los compuestos antibacterianos presentes en los flavonoides inhibieron la síntesis de ácidos nucleicos, así como la función de la membrana citoplasmática y el metabolismo energético bacteriano. Los flavonoides demostraron capacidad para inhibir la síntesis de ácidos nucleicos bacterianos a través de grupos que se cree que juegan un papel en la estructura básica de estos ácidos, inhibiendo así la síntesis de ADN o ARN.

Finalmente concuerda con Ferchau, V et al (2021) Esta investigación evaluó la actividad antibacteriana en diferentes concentraciones, comparado con doxiciclina

y fluconazol en diferentes bacterias, en diferentes horas, obteniendo que el aceite esencial a la concentración al 100 % presento una efectiva actividad antibacteriana frente a *P. gingivalis*. Esto demuestra que los mecanismos inhibidores del crecimiento por material antimicrobiano en forma de reacción a la membrana o pared celular de los microbios pueden causar la interrupción de la retención y el transporte de suplementos por parte de los microorganismos, así como la interrupción del metabolismo energético en las bacterias, específicamente en las bacterias Gram-positivas que poseen una función simple, estructura de la vaina celular; además los alcaloides poseen actividad antibacteriana puesto que el compuesto se conoce como intercalante de ADN e inhibidor de la síntesis de ADN. Los alcaloides son heterocíclicos nitrogenados que contienen al menos una partícula de nitrógeno y se incorporan como base soluble. Esta reunión de bases responde con mezclas ácidas en la célula bacteriana, como el ADN de la célula bacteriana, que es el componente principal del núcleo celular. Por la alteración del ADN, la mezcla de proteínas y ácidos nucleicos en la célula se verá modificada.

La Mullaca es una hierba natural proveniente de las regiones Andinas y Amazónicas, la cual en el presente estudio se demostró sus propiedades antibacterianas, motivo por lo que se convierte en una alternativa natural la cual, tomada en conocimiento, produce descongestión de las vías respiratorias como propiedades antiinflamatorias y antialérgicas que son comunes en la población durante esta época del año³¹.

4.2. Conclusiones

- El extracto etanólico de las hojas de *Muehlenbeckia volcanica* (benth.) Endl. (Mullaca) mostró actividad antibacteriana frente a cepas de *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277.
- En el análisis fitoquímico preliminar se detectaron diversos metabolitos secundarios en la muestra, entre ellos compuestos fenólicos, alcaloides, saponinas, taninos, lactonas α , β -insaturadas, antocianinas, flavonoides, terpenos y esteroides.
- El extracto etanólico de las hojas de *Muehlenbeckia volcanica* (benth.) Endl. (Mullaca) al 25 %, 50 % y 90 % no excedieron el efecto inhibitor de la clorhexidina 0.12% frente a *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277.

4.3. Recomendaciones

- Se sugiere que las autoridades nacionales de salud inviertan presupuesto para el estudio de especies vegetales con capacidades biológicas.
- Utilizar otras cepas bacterianas y micóticas para seguir corroborando la actividad microbiológica de esta especie vegetal, así como su espectro de acción.
- Emplear las hojas de esta especie vegetal para el preparado de formulaciones magistrales.
- Fomentar el uso tradicional de las hojas de *Muehlenbeckia volcanica* (benth.) Endl. (Mullaca)
- Realizar estudios microbiológicos con el tallo, flores, frutos y raíces de *Muehlenbeckia volcanica* (benth.) Endl. (Mullaca) para su utilidad en la salud pública
- Realizar estudios farmacológicos para la aplicación clínica en beneficio de la población.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Aas, J. A. et al. Defining the normal bacterial flora of the oral cavity. *Journal of clinical microbiology*, 2005. 43, 5721-32
2. Allaker, R. P. The use of nanoparticles to control oral biofilm formation. *Journal of dental research*, 2010. 89, 1175-86.
3. Sedlacek, M. J. & WALKER, C.. Antibiotic resistance in an in vitro subgingival biofilm model. *Oral microbiology and immunology*, 2007. 22, 333-9.
4. Marsh, P. D. & Zaura, E.. Dental biofilm: ecological interactions in health and disease. *Journal of clinical periodontology*, 44 Suppl 2017.18, S12-s22.
5. Mary O. et al, *Porphyromonas gingivalis* y enfermedades sistémicas. Medellín, Colombia. (Junio, 2015).
6. Tonetti, M. S., et al. Impact of the global burden of periodontal diseases on health, nutrition and wellbeing of mankind: A call for global action. *Journal of Clinical Periodontology*, 2017. 44, 456- 462.
7. Sheiham, A. & Netuveli, G. S. 2002. Periodontal diseases in Europe. *Periodontology 2000*, 29, 104-21.
8. Llodra Calvo, J. C., Bravo Pérez, M. & Cortés Martinicorena, F. J. 2002. Encuesta de Salud Oral en España (2000). *RCOE*, 7, 19-63.
9. Loe, H., Anerud, A., Boysen, H. & Smith, M. 1978. The natural history of periodontal disease in man. The rate of periodontal destruction before 40 years of age. *Journal of periodontology*, 49, 607-20.
10. Kassebaum, N. J., Bernabe, E., Dahiya, M., Bhandari, B., Murray, C. J. & Marcenes, W. 2014. Global Burden of Severe Tooth Loss: A Systematic Review and Meta-analysis. *Journal of dental research*, 93, 20s-28s
11. Melendez A. et al, Inhibición de *Porphyromonas gingivalis* POR *Cinnamomum verum* E *Illicium verum*, Mexico, 2016.
12. Dominy S. et al. *Porphyromonas gingivalis* in Alzheimer's disease brains: Evidence for disease causation and treatment with small-molecule inhibitors. *Science Advances*. 2019;5(1): eaau3333. Disponible en: <https://advances.sciencemag.org/content/5/1/eaau3333>.
13. Papone V. et al. Detección y prevalencia de patógenos periodontales de una población con periodontitis crónica en Uruguay mediante metodología convencional y metagenómica. Uruguay, mayo 2015.

14. Chugden K. Et Al, Efecto Antibacteriano Del Extracto Etanólico De Propóleo De Cajamarca Frente A Colonias De Porphyromonas Gingivalis (Atcc 33277) In Vitro, Perú,2018.
15. Horna P. “Prevalencia De La Enfermedad Periodontal Y Factores Asociados En Adultos Jóvenes Entre 18 - 24 Años En Lima 2016”, Perú,2021.
16. Romero, M. Plantas medicinales con propiedades antioxidantes en los distritos de Ayacucho, Carmen Alto y Quinoa de la provincia de Huamanga. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. 2006.
17. Agapito F, Sung I. Fitomedicina: 1100 Plantas Medicinales. Perú: Editorial Isabel; 2005.
18. Arauco K. Efecto antiinflamatorio y analgésico del extracto etanólico de *Muehlenbeckia volcánica* (Benth) endlincher (Mullaca) sobre el granuloma inducido por carragenina en ratas. Lima, Perú. 2016.
19. Perez C. Porphyromonas gingivalis como posible agente causal de la enfermedad de Alzheimer. España, 2019.
20. Britos M, et al, Porphyromonas gingivalis, patógeno de relevancia en la enfermedad periodontal, Aregentina.2017.
21. Adhikari K, Saimbi CS, Gupta BP. Estimation of Transmission of Porphyromonas Gingivalis from Mother to Child through Saliva. J Nepal Med Assoc. 31 de agosto de 2018;56(212):781-6.
22. Troil-Lindén B, Torkko H, Alaluusua S, Wolf J, Jousimies-Somer H, Asikainen S. Periodontal findings in spouses: A clinical, radiographic and microbiological study. J Clin Periodontol. 13 de diciembre de 2005;22(2):93-9.
23. Carrol D, Chassagne F, Dettweiler M, Quave C. Antibacterial activity of plant species used for oral health against Porphyromonas gingivalis. PLoS One. 2020;15(10 October):1–22.
24. Cruceira D. “Evaluación biológica del extracto de Muehlenbeckia tamnifolia (Kunth) Meisn fundamentado en el uso etnobotánico.” Universidad Politécnica Salesiana Sede Quito; 2020.
25. Lagos D. et al, “Efecto antibacteriano del extracto etanólico de las HOJAS de Muehlenbeckia volcánica (Benth.) Endl. (Mullaca) en cepas de staphylococcus aureus ATCC 6538, in vitro”. Lima, Perú. 2018.

26. Tamariz C, Olivera P, Santillán M. Antimicrobial, antioxidant and phytochemical assessment of wild medicinal plants from Cordillera Blanca (Ancash, Peru). *Bol Latinoam y del Caribe Plantas Med y Aromat.* 2018;17(3):270–85.
27. Fercha V, Villena M, Vera I. Actividad Antibacteriana Y Citotoxicidad De Cinco Especies Vegetales De La Zona Altoandina Y Amazónica De La Región Del Cusco. *Ambient Comport y Soc.* 2021;4(2):134–53.
28. Palpa D, Fernandez C. Evaluación de la actividad antibacteriana in vitro del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Muehlenbeckia tamnifolia* (kunth) Meisner (GUANO) frente a cepas de *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis*. 2020.
29. Lock O. Investigación fitoquímica, métodos en el estudio de productos naturales. 3ra ed. Lima. K&J Soluciones gráficas; 2016.
30. Farría C. “Efecto antihipertensivo del extracto de raíz de *Muehlenbeckia hastulata* (voqui negro o quilo), en ratas hipertensas renovasculares”. [Tesis]. Valdivia-Chile. Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias veterinarias. Instituto de Farmacología. 2013. Disponible en: <http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2003/fvb275e/doc/fvb275e.pdf>
31. Macalupú S. Manual de procedimientos de laboratorio. 2nd ed. Cabezas C, editor. Lima: Biblioteca Nacional del Perú; 2013. 1–557 p
32. Villar M. EsSalud recomienda recetas naturales para prevenir infecciones respiratorias. Seguro Social de Salud. 2015 [citado el 2 de septiembre de 2022]. Disponible en: <http://www.essalud.gob.pe/essalud-recomienda-recetas-naturales-para-prevenir-infecciones-respiratorias/#:~:text=La%20doctora%20Martha%20Villar%2C%20Directora,ni%C3%B1os%20menores%20de%205%20a%C3%B1os>.

ANEXOS

ANEXO A. Instrumento de recolección de datos.

Ensayo microbiológico in vitro.

Investigadores: Bach. Basurto Laredo, Magaly Beatriz/ Bach. Ccahuana Loayza, Lerroux Margot.

Muestra: Extracto etanólico de hojas de *Muehlenbeckia volcánica* (benth.) Endl. (mullaca).

Microorganismo	Extracto 90%	Extracto 50%	Extracto 25%	Clorhexidina 0,12%	Etanol 96°
<i>Porphyromonas gingivalis</i> ATCC 33277					

Fuente: Elaboración propia.

Observaciones:

.....
.....

ANEXO B. Operacionalización de variables.

Variable	Definición Conceptual	Definición operacional	Dimensiones	Naturaleza	Escala de medición	Indicadores	Unidad de medida
Extracto etanólico de hojas de <i>Muehlenbeckia volcanica</i> (benth.) Endl. (mullaca).	Es un macerado donde el solvente es alcohol de 96°, que presenta metabolitos secundarios.	Se realizará la prueba de solubilidad con reactivos de variada polaridad y el análisis fitoquímico.	Fisicoquímica Fitoquímica	Cualitativo Cualitativo	Nominal Nominal	Solubilidad Reacciones de precipitación y coloración	Insoluble (-) Poco soluble (+) Soluble (++) Muy soluble (+++) Ausencia (-) Leve (+) Moderado (++) Abundante (+++)
Efecto antibacteriano <i>in vitro</i>	Es una aplicación terapéutica, tiene una determinada sustancia para causar lisis o detener el crecimiento de la bacteria (microorganismos que causa infecciones).	La cepa de <i>Porphyromonas gingivalis</i> , se sembrará en placas Petri, junto con poos de gluconato de clorhexidina 0,12% y la muestra a experimentar.	Microbiológico	Cuantitativo	Razón	Inhibición del crecimiento o eliminación de la bacteria.	0: nulo 8-14mm: Sensibilidad límite. 14-20mm: Medio <20mm: Muy sensible

ANEXO C. Certificado Taxonómico

JOSÉ R. CAMPOS DE LA CRUZ
CONSULTOR BOTÁNICO
C. B. P. N° 3796
Tel: 0168852 RPM 963689079
Email: jocamde@gmail.com



CERTIFICACIÓN DE IDENTIFICACION BOTÁNICA

JOSÉ RICARDO CAMPOS DE LA CRUZ, BIÓLOGO COLEGIADO- N° 3796 - INSCRITO CON EL N° 36 EN EL REGISTRO DE PROFESIONALES QUE REALIZAN CERTIFICACIÓN DE IDENTIFICACIÓN TAXONÓMICA DE ESPECÍMENES Y PRODUCTOS DE FLORA - RESOLUCIÓN DIRECTORAL N° 0311-2013- MINAGRI-DGFFS-DGEFFS.

CERTIFICA:

Que, MAGALY BASURTO LAREDO y LARROUX CCAHUANA LOPEZ, estudiantes de la Universidad María Auxiliadora, Facultad de Ciencias de la Salud, Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, con fines de investigación han solicitado la identificación y certificación botánica de muestras de una planta procedente de la provincia de Huanta, departamento Ayacucho, donde es conocida con el nombre vulgar de "mullaca", la muestra ha sido estudiada e identificadas como: *Muehlenbeckia volcanica* (Benth.) Endl. Según la base de Tropicos que sigue la clasificación de los grupos de filogenia de las angiospermas (APG), sistema moderno de clasificación de las angiospermas publicado en 1998 por el Grupo para la Filogenia de las Angiospermas, revisado por APG II (2003), APG III (2009) y APG IV (2016), comparado con el Sistema Integrado de Clasificación de las Angiospermas de Arthur Cronquist. et. al (1981), ocupa las siguientes categorías taxonómicas.

Categorías	Sistema APG-2016	Sistema de Cronquist 1981
Reino	Plantae	Plantae
División	Angiospermae	Magnoliophyta
Clase	Equisetopsida	Magnoliopsida
Subclase	Magnoliidae	Caryophyllidae
Orden	Caryophyllales	Polygonales
Familia	Polygonaceae	Polygonaceae
Género	<i>Muehlenbeckia</i>	<i>Muehlenbeckia</i>
Especie	<i>Muehlenbeckia volcanica</i> (Benth.) Endl	<i>Muehlenbeckia volcanica</i> (Benth.) Endl

Nombre vulgar: "mullaca"

Se expide la presente certificación para los fines de investigación científica.

Lima, 18 de marzo del 2021



José R. Campos De La Cruz
José R. Campos De La Cruz
BIOLOGO
C.B.P. 3796

JR. SANCHEZ SILVA N° 156- piso 3, Urb. Santa Luzmila, Lima 07
Email: joricampos@yahoo.es; jocamde@gmail.com

ANEXO D. Informe de análisis de laboratorio



"Año del Bicentenario del Perú: 200 años de Independencia"

Informe de Resultados

Solicitado por: Magaly Beatriz Basurto Laredo.
Lerroux Margot Ccahuana Loayza.
Muestra: Extracto de HOJAS DE MULLACA
Cantidad: 8.21 gr
Fecha de ensayo: 26-08-2022

Microorganismo	Diámetros de inhibición en mm				
	90%	50%	25%	Clorhexidina 0.12%	Etanol 96°
<i>Porphyromonas gingivalis</i> ATCC 33277	15.21	13.11	11.52	20.35	6
	15.25	13.15	11.57	20.36	6
	15.20	13.10	11.50.	20.32	6
	15.21	13.14	11.52	20.33	6
	15.19	13.14	11.44	20.28	6
	15.20	13.10	11.52	20.30	6
	15.21	13.15	11.50	20.34	6
	15.22	13.09	11.52	20.35	6
	15.20	13.14	11.50	20.30	6
	15.23	13.15	11.54	20.32	6

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

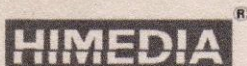
*Concentración del inóculo: 1.5×10^8 UFC/mL

Lic. T.M. Walter A. Siri Rodriguez

CTMP. 10808

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

ANEXO E. Certificado de Agar Mueller Hinton



Certified : ISO 9001:2008, ISO 13485-2012 and WHO GMP

HiMedia Laboratories Private Limited
23, Vadhani Industrial Estate, L.B.S. Marg, Mumbai - 400086
Website : www.himedialabs.com, Email : info@himedialabs.com

Certificate of Analysis, Quality and Conformity

Material Code : M173	Material Name : Mueller Hinton Agar	Lot No : 0000322697
Report No.: 040000779434	Date of Report : 22.12.2017	Expiry Date : Dec-2022

Appearance

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

Gelling

Firm, comparable with 1.7% agar gel.

Colour and Clarity of prepared medium

Light amber coloured clear to slight opalescent gel forms in Petri plates.

Reaction

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

pH

pH Range :7.20-7.40 Observed : 7.37

Cultural Response

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

Antibiotic Sensitivity test

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

Thymine/Thymidine Content

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

Divalent Cation Content

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

Organism	Inoculum (CFU)	Growth	Observed Lot value (CFU)	Recovery	Standard Zone	Zone of inhibition Observed
Escherichia coli ATCC 25922(WDCM 00013)						
<i>Growth promoting</i>	85	luxuriant	80	94%	-	-
<i>Amoxyclav AMC 30 mcg</i>	-	-	-	-	18-24 mm	23mm
<i>Ampicillin AMP 10 mcg</i>	-	-	-	-	16-22 mm	21mm
<i>Cefotaxime CTX 30 mcg</i>	-	-	-	-	29-35 mm	34mm
<i>Cefoxitin CX 30 mcg</i>	-	-	-	-	23-29 mm	27mm
<i>Cephalothin CEP 30mcg</i>	-	-	-	-	15-21 mm	20mm
<i>Chloramphenicol C 30 mcg</i>	-	-	-	-	21-27 mm	26mm
<i>Ciprofloxacin CIP 5mcg</i>	-	-	-	-	30-40 mm	38mm

HiMedia Laboratories Private Limited

23, Vadhani Industrial Estate, L.B.S. Marg, Mumbai - 400086

Website : www.himedialabs.com, Email : info@himedialabs.com

Certificate of Analysis, Quality and Conformity

Material Code : M173	Material Name : Mueller Hinton Agar	Lot No : 0000322697
Report No.: 040000779434	Date of Report : 22.12.2017	Expiry Date : Dec-2022

<i>Gentamicin GEN 10 mcg</i>	-	-	-	-	19-26 mm	25mm
<i>Sulphafurazole SF 300 mcg</i>	-	-	-	-	15-23 mm	21mm
<i>Tetracycline TE 30 mcg *</i>	-	-	-	-	18-25 mm	24mm
<i>Co-Trimoxazole COT 25 mcg #</i>	-	-	-	-	23-29 mm	28mm

Staphylococcus aureus ATCC 25923 (WDCM 00034)

<i>Growth promoting</i>	86	luxuriant	79	91%	-	-
<i>Amoxyclav AMC 30 mcg</i>	-	-	-	-	28-36 mm	35mm
<i>Ampicillin/Sulbactam A/S 10/10 mcg</i>	-	-	-	-	29-37 mm	36mm
<i>Cephalothin CEP 30mcg</i>	-	-	-	-	29-37 mm	35mm
<i>Ciprofloxacin CIP 5mcg</i>	-	-	-	-	22-30 mm	28mm
<i>Erythromycin E 15 mcg</i>	-	-	-	-	22-30 mm	29mm
<i>Linezolid LZ 30 mcg</i>	-	-	-	-	25-32 mm	30mm
<i>Oxacillin OX 1mcg</i>	-	-	-	-	18-24 mm	23mm
<i>Pristinomycin RP 15 mcg</i>	-	-	-	-	21-28 mm	27mm
<i>Tetracycline TE 30 mcg *</i>	-	-	-	-	24-30 mm	29mm
<i>Vancomycin VA 30 mcg</i>	-	-	-	-	17-21 mm	20mm
<i>Co-Trimoxazole COT 25 mcg #</i>	-	-	-	-	24-32 mm	30mm
<i>Cefoxitin CX 30 mcg</i>	-	-	-	-	23-29 mm	28mm

Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853 (WDCM 00025)

<i>Growth promoting</i>	81	luxuriant	78	96%	-	-
<i>Amikacin AK 30 mcg *</i>	-	-	-	-	18-26 mm	25mm
<i>Aztreonam AT 3mcg</i>	-	-	-	-	23-29 mm	28mm
<i>Cephotaxime CTX 30 mcg</i>	-	-	-	-	18-22 mm	21mm
<i>Ceftazidime CAZ 30 mcg</i>	-	-	-	-	22-29 mm	28mm
<i>Ciprofloxacin CIP 5mcg</i>	-	-	-	-	25-33 mm	32mm
<i>Gentamicin GEN 10 mcg *</i>	-	-	-	-	16-21 mm	20mm
<i>Imipenem IPM 10 mcg</i>	-	-	-	-	20-28 mm	27mm
<i>Piperacillin PI 100 mcg</i>	-	-	-	-	25-33 mm	32mm
<i>Ticarcillin/Clavulanic acid TCC 75/10mcg</i>	-	-	-	-	20-28 mm	26mm
<i>Tobramycin TOB 10 mcg *</i>	-	-	-	-	19-25 mm	24mm

Escherichia coli ATCC 35218

<i>Growth promoting</i>	82	luxuriant	77	93%	-	-
<i>Amoxyclav AMC 30 mcg</i>	-	-	-	-	17-22 mm	21mm
<i>Ampicillin AMP 10 mcg</i>	-	-	-	-	6 mm	6mm
<i>Ampicillin/Sulbactam A/S 10/10 mcg</i>	-	-	-	-	13-19 mm	17mm

HiMedia Laboratories Private Limited
 23, Vadhani Industrial Estate, L.B.S. Marg, Mumbai - 400086
 Website : www.himedialabs.com, Email : info@himedialabs.com

Certificate of Analysis, Quality and Conformity

Material Code : M173	Material Name : Mueller Hinton Agar	Lot No : 0000322697
Report No.: 040000779434	Date of Report : 22.12.2017	Expiry Date : Dec-2022

<i>Piperacillin PI 100 mcg</i>	-	-	-	-	12-18 mm	16mm
<i>Piperacillin/Tazobactam PIT 100/10 mcg</i>	-	-	-	-	24-30 mm	28mm
<i>Ticarcillin TI 75 mcg</i>	-	-	-	-	6 mm	6mm
<i>Ticarcillin/Clavulanic acid TCC 75/10mcg</i>	-	-	-	-	21-25 mm	23mm
Enterococcus faecalis ATCC 29212 (WDCM 00087)						
<i>Growth promoting</i>	88	luxuriant	80	90%	-	-
<i>Co-Trimoxazole COT 25 mcg #</i>	-	-	-	-	# 20 mm (Clear zone)	29mm
<i>Trimethoprim TR 5 mcg #</i>	-	-	-	-	# 20 mm	27mm
<i>Vancomycin VA 30 mcg</i>	-	-	-	-	# 17 mm	23mm
Staphylococcus aureus ATCC 43300 (MRSA) (WDCM 00211)						
<i>Growth promoting</i>	86	luxuriant	85	0	-	-
<i>Oxacillin OX 1 mcg</i>	-	-	-	-	Very Hazy to No Zone	No zone
Sterptococcus pneumoniae ATCC 49619 (On Medium with 5% Sheep Blood)						
<i>Growth promoting</i>	81	luxuriant	76	93%	-	-
Neisseria gonorrhoeae ATCC 49226 (Incubated w/5% CO2)						
<i>Growth promoting</i>	85	luxuriant	80	94%	-	-
Haemophilus influenzae ATCC 49247 (On medium w/ Y.E.,NAD & Hematin)						
<i>Growth promoting</i>	83	luxuriant	78	93%	-	-

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

Control Media :

- . For Bacteria : Soyabean Casein Digest Agar / Columbia Blood Agar base enriched with 5% v/v Sheep/Horse blood.
- . For Yeast & Mold : Sabouraud Dextrose Agar.

- . All ISO 11133 : 2014(E) control strains are included in the Quality parameter
- . HiMedia Laboratories Pvt Ltd is certified for ISO 9001-2008, ISO 13485-2012 and WHO GMP.

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

HiMedia Laboratories Private Limited

23, Vadhani Industrial Estate, L.B.S. Marg, Mumbai - 400086

Website : www.himedialabs.com, Email : info@himedialabs.com

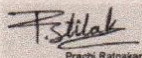
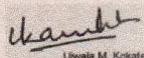
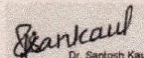
Certificate of Analysis, Quality and Conformity

Material Code : M173	Material Name : Mueller Hinton Agar	Lot No : 0000322697
Report No.: 040000779434	Date of Report : 22.12.2017	Expiry Date : Dec-2022

STATUS OF THE MATERIAL : APPROVED

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

This document has been produced electronically and is valid


Prachi Ratnakar**Microbiologist/Sr.Executive
Microbiologist**
Ujwala M. Kokate**Asst./Dy/QC Manager**
Dr. Santosh Kaul**Dy/QA Manager**

22.12.2017

ANEXO F. Certificado de análisis de Cepa *Porphyromonas gingivalis*

thermo**scientific**

Thermo Fisher Scientific
Microbiology
12076 Santa Fe Trail Drive
12230 Santa Fe Trail Drive
Lenexa, KS 66215
800.255.6730
800.447.5761 fax
www.thermofisher.com

Certificate of Analysis

Product Name: *P. gingivalis* ATCC 33277 PK/5
Lot Number: 481332

Product Number: R4609008
Expiration Date: 2023-10-31
(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:

Each 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.

Characterization:

Organism exhibits characteristic biochemical, enzymatic, genotypical and/or biochemical 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: >10(4)

Passage: 3

Gram Reaction: Gram Negative Rod

Identification Profile: MicroSEQ® or Vitek® 2

Appearance: Preserved Gel Matrix suspended in inoculating loop
pH: N/A

thermo**scientific**

Thermo Fisher Scientific
Microbiology
12076 Santa Fe Trail Drive
12230 Santa Fe Trail Drive
Lenexa, KS 66215
800.255.6730
800.447.5761 fax
www.thermofisher.com

Certificate of Analysis

Signed



Quality Assurance Manager

The identity, purity, and authenticity of the Licensed Products are exclusively the responsibility of Remel Inc. and not ATCC. The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative Word mark, and the ATCC Catalog Marks are trademarks of ATCC. Remel Inc. is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® culture.



ANEXO G. Carta emitida de la Universidad María Auxiliadora al jefe de laboratorio.



"Año del Fortalecimiento de la Soberanía Nacional"

San Juan de Lurigancho 18 de julio del 2022

CARTA N° 138-2022/ EPFYB-UMA

Sr.

WALTER A. SIRI RODRIGUEZ

Jefe de Laboratorio Biológico y Análisis Clínico "Santa Rosa E.I.R.L.

Presente. –

De mi especial consideración:

Es grato dirigirme a usted para saludarlo en nombre propio y de la Universidad María Auxiliadora, a quien represento en mi calidad de Director de la Escuela de Farmacia y Bioquímica.

Sirva la presente para pedir su autorización a que los bachilleres: BASURTO LAREDO, Magaly Beatriz, DNI 70778534 y CCAHUANA LOAYZA, Lerroux Margot, DNI 46871052 puedan recopilar datos para su proyecto de tesis titulado: "**ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA In Vitro DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE HOJAS DE *Muehlenbeckia volcanica* (benth.) En dl. (mullaca) FRENTE A *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277**".

Sin otro particular, hago propicio la ocasión para expresarle los sentimientos de mi más alta consideración y estima.

Atentamente,



Dr. Jhonel Samanego Joaquin
Director de la Escuela Profesional de
Farmacia y Bioquímica



Av. Canto Bello 431, San Juan de Lurigancho
Telf: 389 1212
www.umaperu.edu.pe

LGC/jlr

ANEXO H. Constancia de aceptación por el jefe del laboratorio Santa Rosa E.I.R.L



"Año del Fortalecimiento de la Soberanía Nacional"

Constancia

El que suscribe Lic. T.M. Walter A. Siri Rodriguez encargado de supervisar el presente trabajo de investigación en el Laboratorio Biológico y Análisis Clínico Santa Rosa E.I.R.L., hace constar que:

Los bachilleres de la Escuela de Farmacia y Bioquímica de la Universidad María Auxiliadora, Basurto Laredo Magaly Beatriz y Ccahuana Loayza Lerroux Margot; realizaron ensayos microbiológicos para el desarrollo de su Tesis "ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA In Vitro DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE HOJAS DE *Muehlenbeckia volcanica* (benth.) En dl. (mullaca) FRENTE A *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277" dentro de las instalaciones del Laboratorio.

Se expide la presente constancia a solicitud de los interesados, para los fines correspondientes.

Lima 22 de julio del 2022.

Lic. T.M. Walter A. Siri Rodriguez

CTMP. 10808

ANEXO I. Evidencias fotográficas



FIGURA 1. Ubicación de la muestra



FIGURA 2. Recolección de la muestra



FIGURA 3. Selección de la muestra



FIGURA 4. Procedimiento de lavado de la muestra



FIGURA 5. Procedimiento de secado de la muestra



FIGURA 6. Procedimiento de molienda de la muestra



FIGURA 7. Procedimiento de filtración del macerado del extracto etanólico

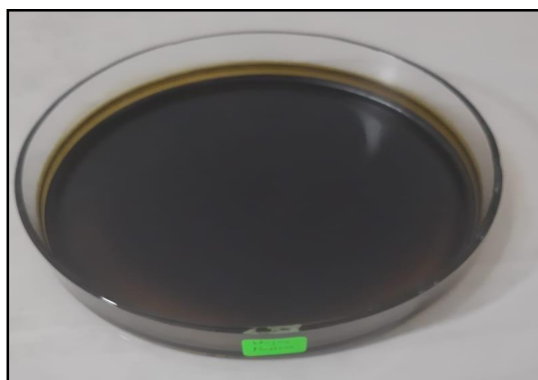


FIGURA 8. Obtención del extracto seco



FIGURA 9. Resultado del ensayo de solubilidad



FIGURA 10. Procedimiento del tamizaje fitoquímico

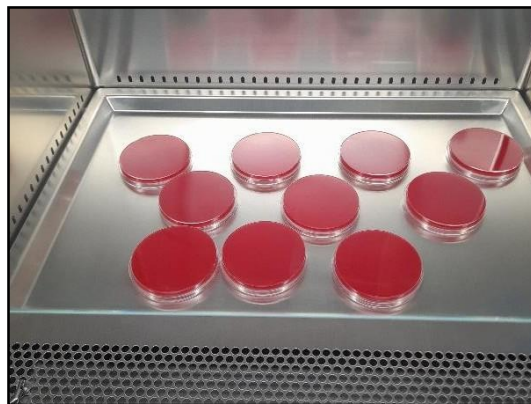


FIGURA 11. Preparación de medio de cultivo

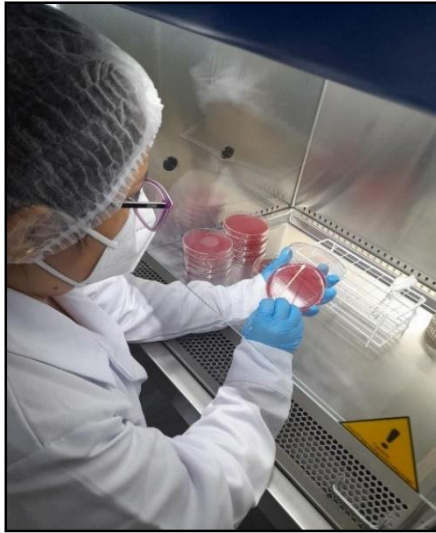


FIGURA 12. Activación de la cepa



FIGURA 13. Preparación de los discos de sensibilidad

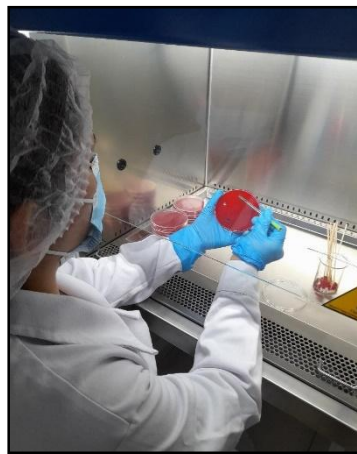
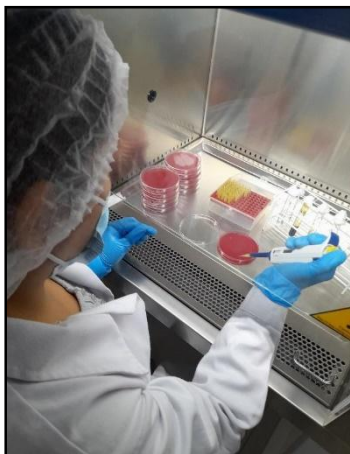


FIGURA 14. Colocación de discos



FIGURA 15. Incubación

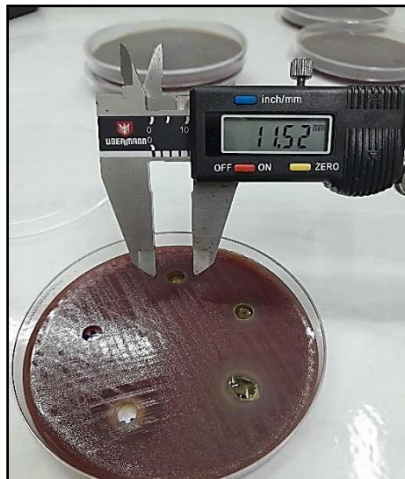


FIGURA 16. Lectura de resultados