



**UMA**  
Universidad  
María Auxiliadora

**FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUIMICA**

**ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA IN VITRO DEL EXTRACTO  
ETANÓLICO DE SEMILLAS DE *Carica papaya* L. (PAPAYA)  
FRENTE A *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 Y *Escherichia  
coli* ATCC 25922**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE FARMACIA Y  
BIOQUÍMICA**

**AUTORES**

**Bach. ALARCÓN VARGAS MACHUCA, PAMELA NICOLE**

**<https://orcid.org/0009-0007-0048-6521>**

**Bach. MUÑOZ BEDRIÑANA, PRISCILLA EDUVIGES**

**<https://orcid.org/0009-0006-1030-8641>**

**ASESOR**

**Mg. HERNÁNDEZ PEVES, MARÍA MARTHA**

**<https://orcid.org/0000-0001-8632-9816>**

**LIMA – PERÚ**

**2023**

## DECLARACIÓN JURADA DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD

Yo, **Pamela Nicole Alarcón Vargas Machuca**, con DNI **45723236** en mi condición de autor(a) de la tesis presentada para optar el presentada para optar el TITULO PROFESIONAL de **FARMACIA Y BIOQUIMICA** de título “**ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA IN VITRO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE SEMILLAS DE *Carica papaya* L. (PAPAYA) FRENTE A *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 Y *Escherichia coli* ATCC 25922**”, **AUTORIZO** a la Universidad María Auxiliadora (UMA) para publicar de manera indefinida en el repositorio institucional, el archivo digital que estoy entregando, en cumplimiento a la Ley N°30035 que regula el Repositorio Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación de acceso abierto y su respectivo Reglamento.

Indicar que dicho documento es **ORIGINAL** con un porcentaje de similitud **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.

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

Lima, 20, de Enero de 2025.

Pamela Nicole Alarcón Vargas Machuca

Mg. María Martha Hernández Peves

## DECLARACION JURADA DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD

Yo, MUÑOZ BEDRIÑANA, PRISCILLA EDUVIGES, con DNI 43252035 en mi condición de autor(a) de la tesis presentada para optar el presentada para optar el TITULO PROFESIONAL de Químico Farmacéutico de título "ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA IN VITRO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE SEMILLAS DE Carica papaya L. (PAPAYA) FRENTE A Staphylococcus aureus ATCC 25923 Y Escherichia coli ATCC 25922", AUTORIZO a la Universidad Maria Auxiliadora (UMA) para publicar de manera indefinida en el repositorio institucional, el archive digital que estoy entregando, en cumplimiento a la Ley N°30035 que regula el Repositorio Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación de acceso abierto y su respectivo Reglamento.

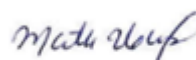
Indicar que dicho documento es ORIGINAL con un porcentaje de similitud 18% y, que se han respetado los derechos de autor en la elaboración del mismo. Además, recalcar que se está entregado la versión final del documento sustentado y aprobado por el jurado evaluador.

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

Lima, \_20, de Ener0 2025.



-----  
MUÑOZ BEDRIÑANA, PRISCILLA EDUVIGES



-----  
Mg. María Martha Hernández Peves

# ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA IN VITRO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE SEMILLAS DE Carica papaya L. (PAPAYA) FRENTE A Staphylococcus aureus ATCC 25923 Y Escherichia coli ATCC 25922.

## INFORME DE ORIGINALIDAD

18%

INDICE DE SIMILITUD

14%

FUENTES DE INTERNET

6%

PUBLICACIONES

15%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

## FUENTES PRIMARIAS

1	Submitted to Universidad Maria Auxiliadora SAC Trabajo del estudiante	8%
2	renati.sunedu.gob.pe Fuente de Internet	2%
3	Submitted to Universidad Católica de Santa María Trabajo del estudiante	2%
4	repositorio.uap.edu.pe Fuente de Internet	2%
5	www.repositorio.uma.edu.pe Fuente de Internet	1%
6	repositorio.cientifica.edu.pe Fuente de Internet	1%
7	dspace.unapiquitos.edu.pe Fuente de Internet	1%

## **DEDICATORIA**

“Dedico este trabajo de investigación a las mujeres de mi familia; primas hermanas, tías y a mi madre que en paz descansen quienes han sido fuente de inspiración a lo largo de mi vida.

Gracias por inculcarme valores como la perseverancia, esfuerzo y dedicación que me han llevado a alcanzar este logro, también quiero agradecer a mi hermano por su constante ánimo y motivación. Finalmente, a mis hijos Macarena y Franchesco. ¡Este logro es para ustedes!”

Priscilla Muñoz

"Dedico este trabajo de investigación a mi esposo Alex y a mis hijos Liam y Maia, quienes han sido mi mayor motivación y apoyo para seguir adelante a pesar de todos los obstáculos que se presentaron a lo largo de nuestra vida. A mi abuelita mami china por siempre confiar en mi y acompañarme. A mis padres por impulsarme a culminar mi carrera y finalmente a nosotras mismas por no darnos por vencidas y animarnos mutuamente para así lograr que nuestra meta se haga realidad”.

Pamela Alarcón

## **AGRADECIMIENTO**

"En primer lugar, quisiéramos agradecer a nuestra asesora de tesis, por su orientación, paciencia y dedicación a lo largo de todo el proceso de investigación. Sus conocimientos y experiencia fueron fundamentales para la realización de este trabajo.

Agradecemos a todas las personas que, de una forma u otra, contribuyeron al desarrollo de este trabajo y a nuestra formación como profesionales.

Y finalmente queremos agradecernos a nosotras mismas por creer en nosotras, por esforzarnos en realizar este trabajo, por no tener días libres, por nunca darnos por vencidas. Queremos agradecernos a nosotras mismas por siempre dar mas de lo que recibimos y siempre tratar de hacer lo correcto."

## ÍNDICE GENERAL

RESUMEN.....	vii
ABSTRACT .....	viii
I. INTRODUCCIÓN .....	1
II. MATERIALES Y MÉTODOS.....	8
2.1. Enfoque y diseño de la investigación.....	8
2.2. Población, muestra y muestreo .....	8
2.3. Variables de investigación .....	9
2.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos. ....	9
2.5. Plan de recolección de datos.....	9
2.6. Métodos de análisis estadísticos .....	12
2.7. Aspectos éticos .....	12
III. RESULTADOS .....	13
IV DISCUSIÓN .....	20
4.1 Discusión de resultados.....	20
4.2. Conclusiones .....	22
4.3. Recomendaciones .....	23
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	24
ANEXOS.....	29
ANEXO A. Instrumentos de recolección de datos .....	29
ANEXO B. Matriz de consistencia .....	32
ANEXO C. Operacionalización de las variables .....	33
ANEXO D. Certificado Taxonómico .....	34
ANEXO E. Informe de Análisis de Laboratorio .....	35
ANEXO F. Certificado de Agar Mueller Hinton .....	36
ANEXO G. Certificado de Análisis de Cepa <i>Escherichia coli</i> .....	40
ANEXO H. Certificado de Análisis de Cepa <i>Staphylococcus aureus</i> .....	42
ANEXO I. Evidencias fotográficas .....	45
ANEXO J. Porcentaje de rendimiento.....	56

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Ensayo de Solubilidad .....	13
<b>Tabla 2.</b> Resultados del ensayo fitoquímico .....	14
<b>Tabla 3.</b> Halos de inhibición de ensayo microbiológico en <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 y <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.....	15
<b>Tabla 4.</b> Estadísticos descriptivos de los resultados del ensayo microbiológico...	16
<b>Tabla 5.</b> Comparación de medias por el ANOVA.....	17
<b>Tabla 6.</b> Comparaciones múltiples por la prueba de Tukey.....	18



## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Muestra de tipo semillas de <i>Carica papaya L.</i> (papaya) .....	45
<b>Figura 2.</b> Selección de la muestra.....	45
<b>Figura 3.</b> Lavado de la muestra .....	45
<b>Figura 4.</b> Extracción de semillas .....	46
<b>Figura 5.</b> Limpieza de semillas.....	46
<b>Figura 6.</b> Procedimiento de secado de semillas.....	46
<b>Figura 7.</b> Procedimiento de molienda.....	47
<b>Figura 8.</b> Preparación del macerado del extracto etanólico .....	47
<b>Figura 9.</b> Proceso de filtración.....	47
<b>Figura 10.</b> Proceso de vertido en placas.....	48
<b>Figura 11.</b> Obtención de extracto seco .....	48
<b>Figura 12.</b> Pesando del Agar .....	51
<b>Figura 13.</b> Autoclave para el uso en la prueba microbiológica .....	51
<b>Figura 14.</b> Agar Mueller .....	51
<b>Figura 15.</b> Placas preparadas .....	52
<b>Figura 16.</b> Cepa biológica de tipo: <i>E. Coli</i> ATCC 25922.....	52
<b>Figura 17.</b> Cepa biológica de tipo: <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 .....	52
<b>Figura 18.</b> Comparación de turbidez mediante reactivo de Mc. Farland .....	53
<b>Figura 19.</b> Rotulado de placas .....	53
<b>Figura 20.</b> Sembrado de la cepa biológica en placas.....	53
<b>Figura 21.</b> Realizando pozos en agar con ayuda de un sacabocado.....	54
<b>Figura 22.</b> Adición de la sustancia experimental en la placa Petri .....	54
<b>Figura 23.</b> Incubación .....	54
<b>Figura 24.</b> Placas Petri con halos de inhibición.....	55
<b>Figura 25.</b> Lectura de resultados.....	55

## RESUMEN

**Objetivo:** Determinar la actividad antibacteriana in vitro del extracto etanólico de semillas de *Carica papaya* L. (papaya) frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Escherichia coli* ATCC 25922.

**Materiales y métodos:** enfoque cuantitativo, tipo experimental, transversal, población de 10 kilos de frutos de *Carica papaya* L. y muestra de 1 kg de semillas. El procedimiento fitoquímico fue la marcha fitoquímica, según la metodología de Olga Lock y el análisis microbiológico fue el método de difusión en agar en pozos, constituida por grupos experimentales al 25 %, 50 % y 75 %, control ciprofloxacino 5 µg y DMSO.

**Resultados:** Los metabolitos secundarios que se detectaron en el extracto etanólico de semillas de *Carica papaya* L. (papaya) fueron los compuestos fenólicos, lactonas  $\alpha$ ,  $\beta$ -insaturadas, taninos, azúcares reductores, saponinas, antraquinonas, terpenos y esteroides, alcaloides, antocianinas y flavonoides. Por otro lado, mediante la prueba de ANOVA ( $p < 0,05$ ) y Tukey, se demostró como resultado diferencia estadísticamente significativa. La concentración que presentó actividad antibacteriana del extracto etanólico de semillas de *Carica papaya* L. (Papaya) frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 fue del 50% y el 75%, por otro lado, ninguna de las concentraciones presentó actividad frente *Escherichia coli* ATCC 25922. Asimismo, ninguna de las concentraciones supero el efecto inhibitor del ciprofloxacino.

**Conclusión:** El extracto etanólico de las semillas de *Carica papaya* L. (Papaya) presentó efecto antibacteriano frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y no presentó actividad frente *Escherichia coli* ATCC 25922.

**Palabras clave:** *Carica papaya* L.; extracto etanólico; antibacteriano

## ABSTRACT

**Objective:** To determine the in vitro antibacterial activity of ethanolic extract of *Carica papaya* L. seeds (papaya) against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 and *Escherichia coli* ATCC 25922.

**Materials and methods:** quantitative approach, experimental type, cross-sectional, population of 10 kilos of fruits of *Carica papaya* L. and sample of 1 kg of seeds. The phytochemical procedure was the phytochemical march, according to the methodology of Olga Lock and the microbiological analysis was the method of diffusion in agar in wells, constituted by experimental groups at 25%, 50% and 75%, control ciprofloxacin 5 µg and DMSO.

**Results:** The secondary metabolites that were detected in the ethanolic extract of *Carica papaya* L seeds. (papaya) were phenolic compounds, α lactones, β-unsaturated, tannins, reducing sugars, saponins, anthraquinones, terpenes and steroids, alkaloids, anthocyanins, and flavonoids. On the other hand, by means of the ANOVA test ( $p < 0.05$ ) and Tukey, a statistically significant difference was demonstrated as a result. The concentration that presented antibacterial activity of ethanolic extract of seeds of *Carica papaya* L. (Papaya) against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 was 50% and 75%, on the other hand, none of the concentrations presented activity against *Escherichia coli* ATCC 25922. Also, none of the concentrations exceeded the inhibitory effect of ciprofloxacin.

**Conclusion:** The ethanolic extract of the seeds of *Carica papaya* L. (Papaya) showed antibacterial effect against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 and did not present activity against *Escherichia coli* ATCC 25922.

**Keywords:** *Carica papaya* L.; ethanolic extract; antibacterial

## I. INTRODUCCIÓN

Las infecciones transmitidas por alimentos se consideran un problema de salud pública extremadamente importante que plantea riesgos en todo el mundo para la industria alimentaria y los consumidores, principalmente debido a la contaminación de los alimentos causada por dos patógenos clave, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* (1). Entre los diversos factores determinantes intrínsecos para el deterioro de los alimentos, la presencia de ciertos microorganismos patógenos (bacterias, hongos y virus) causa deterioro y descomposición que impiden el desarrollo socioeconómico, bajo ciertas condiciones, *Escherichia coli* causa infecciones del tracto gastrointestinal, infecciones del tracto urinario y otras infecciones locales de tejidos y órganos; mientras tanto, *Staphylococcus aureus* como un patógeno oportunista que produce enterotoxinas que conducen a una intoxicación alimentaria, así como enfermedades de la piel, como dermatitis atópica y lesiones, como una quemadura, estas infecciones invasivas de la piel son causadas principalmente por *S. aureus*, el cual incluye Infecciones por estafilococo resistente a la meticilina (MRSA) (2,3)

De las 13,7 millones de muertes provocadas por diversas infecciones alrededor del mundo, 7,7 millones fueron por bacterias comunes, principalmente: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* y *Streptococcus pneumoniae*, estas bacterias son responsables de más del 30% de muertes en el mundo (4).

España reportó 63.1%, Asia 25%, Pacífico Occidental 80% y África 80%, los cuales presentaron resistencia de las infecciones causados por *Staphylococcus aureus* (5). En Europa, Asia, Oceanía y África las enfermedades diarreicas son provocadas por el consumo de agua y alimentos con microorganismos patógenos presentes de origen fecal, esto se ve reflejado como un problema de salud importante (6).

La infección de la piel es una de las causas principales de consulta médica, seguida de infecciones respiratorias y urinarias los cuales representan el 71,8% de visitas en emergencia en EE.UU., entre los microorganismos más frecuentes encontrados estuvo *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa* (7). Un estudio reveló que en México el 61,7% de infecciones fueron causadas por *Staphylococcus aureus* (8). En Estados Unidos menos del 1% de las consultas ambulatorias son por ITU;

México reportó que 5 millones de su población padece de ITU en algún momento determinado de su vida, siendo la principal bacteria *Escherichia coli* (9) (10).

En nuestro país, los casos de infecciones por *St. aureus* se asemeja con distintas regiones; además el 19% de casos médicos por ITU se deben a esta patología, y frente a aminoglucósidos introducida por *E. coli* fue de 27,1% (11) (12).

Las bacterias resistentes a los antibióticos, como *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* son una preocupación que pone en peligro el éxito de las iniciativas de salud (13). Además, la resistencia bacteriana es costosa económicamente, empeora las condiciones de los pacientes y eleva la tasa de morbilidad de la población. Por lo tanto, la búsqueda de agentes antibacterianos potenciales con mecanismos de acción precisos se ha convertido en un impulso esencial entre los científicos de alimentos, siendo uno de los potenciales agentes antimicrobianos *Carica papaya* L. (Papaya) por los usos tradicionales que posee en base a infecciones en la recuperación del paciente, el cual se tiene una de las partes importantes el uso de la semilla, así mismo los derivados de frutos que ocasionan contaminación a nivel mundial, repercutiendo en el aire, el agua y la tierra; así como en la salud pública (14) (15). Por lo mismo se propone de manera integral emplear las semillas de *Carica papaya* L. (Papaya) para un uso alternativo fitoterapéutico que no genere resistencia bacteriana.

Es por lo que el proyecto de investigación presenta el siguiente problema general:  
¿Presentará actividad antibacteriana in vitro el extracto etanólico de semillas de *Carica papaya* L. (Papaya) frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Escherichia coli* ATCC 25922?

De esta manera nos preguntamos:

- ¿Qué metabolitos secundarios tiene el extracto etanólico de semillas de *Carica papaya* L. (Papaya)?
- ¿El extracto etanólico de semillas de *Carica papaya* L. (Papaya) tendrá actividad antibacteriana in vitro frente *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Escherichia coli* ATCC 25922 en la concentración del 25%?

- ¿El extracto etanólico de semillas de *Carica papaya* L. (Papaya) tendrá actividad antibacteriana in vitro frente *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Escherichia coli* ATCC 25922 en la concentración del 50%?
- ¿El extracto etanólico de semillas de *Carica papaya* L. (Papaya) tendrá actividad antibacteriana in vitro frente *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Escherichia coli* ATCC 25922 en la concentración del 75%?
- ¿Cuál es la actividad antibacteriana in vitro del extracto etanólico de semillas de *Carica papaya* L. (Papaya) comparado con fármaco de referencia frente *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Escherichia coli* ATCC 25922?

Las bacterias como *Staphylococcus aureus* grampositivas tienen un diámetro de entre 0,5 y 1,5 micras. Se separan y se asemejan a racimos de uva, lo que facilita su identificación, en la actualidad existe 35 especies reconocidas y 17 subespecies en el género *Staphylococcus*. Asimismo, debido a su facilidad de transmisión de una especie a otra o entre miembros de la misma especie, este género tiene un potencial de adaptación que tiende a influir como potencial patógeno en la salud humana (16) (17).

*Escherichia coli* es una bacteria gramnegativa con forma de bastón o bacilo que es miembro de la familia *Enterobacteriaceae*, habita en el intestino humano como parte de la microbiota natural. También se puede detectar en la sangre de algunos animales. Las endotoxinas y fimbrias que están presentes en su estructura son las que le confieren su patogenicidad. Esta bacteria está ligada a trastornos intestinales y urinarios así como en ambientes hospitalarios debido a que se adquiere por vía fecal-mano-oral (18).

La especie vegetal *Carica papaya* L. está muy extendida en todo el mundo y es particularmente común en las regiones tropicales y subtropicales de América latina. Perú es una de las naciones que produce con una temperatura promedio anual de 25°C, que lo convierte en el principal exportador del mundo. La precipitación mensual recomendada para la papaya es de 4 pulgadas, distribuidas uniformemente. Respecto a la siembra los árboles estos necesitan más riego en

lugares con precipitaciones limitadas debido a la alta sensibilidad a las inundaciones (19).

La papaya es un fruto grande, carnoso, indeterminado, de pulpa blanda, densa, fragante, que varía en color desde amarillo a rojo y a nivel medicinal posee propiedades antiinflamatorias, calmantes, cicatrizantes, antibacterianas, digestivas, diuréticas, emolientes, exfoliantes y laxantes. Respecto a su composición fitoquímica contiene 9% de azúcares totales y un contenido en vitaminas B1, B6, C y A. Los tallos y las hojas contienen carpaína, un alcaloide que favorece los latidos del corazón. Además, se encuentra proteínas, carbohidratos, fibra, calcio, fósforo, hierro y carotenoides, incluidos licopeno, betacaroteno y criptoxantina y las semillas contienen papaína, una enzima que mejora la digestión y ablanda la carne. También son ricas en fibra y agua, lo cual previene el estreñimiento y favorece la regularidad y la salud del sistema digestivo (20).

Li P, *et al.* (2021), su objetivo principal fue realizar el efecto antibacteriano de semillas de *Carica papaya* L., obteniendo como resultado que el isotiocianato de bencilo extraído de semillas de papaya presentó efecto antibacteriano de amplio espectro con una concentración inhibitoria mínima de 1  $\mu\text{L}/\text{mL}$  para *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. Concluyendo que las semillas de *Carica papaya* L. tienen un potencial agente antibacteriano el cual se presenta como alternativa terapéutica frente a infecciones en relación de las cepas en estudio (21).

Dotto J, & Abihudi S. (2020), en su estudio, determinaron la composición fitoquímica de *Carica papaya* L., en la cual destacaron que las semillas de papaya, son una fuente de ácidos grasos esenciales como ácido oleico con (70.84% - 79.10%), además resaltaron la actividad antibacteriana, siendo un potente inhibidor contra bacterias como *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, así como actividad antitumoral, inmunomodulador entre otras, mostrando el valor nutracéutico presente en la planta completa (22).

Sugiyarto, *et al.* (2019), su objetivo fue determinar la actividad antibacteriana de semillas y corteza de *Carica pubescens* frente *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, mediante el método de percolación empleando etanol, además emplearon el método de pocillos de agar en fracciones de concentración de 12,5%, 25% y 50%,

obteniendo como resultado que 2 de los 3 extractos (hexano y etil acetato) presentaron actividad. Concluyendo que el extracto de corteza y semilla de *Carica pubescens* presentaron actividad antibacteriana (23).

Gálvez D, & Ayasta V. (2022), su objetivo fue determinar el efecto antibacteriano del extracto hexánico de semillas de *Carica papaya* L frente a *Staphylococcus aureus*, mediante la difusión en pozo de agar. Como resultados obtuvieron que la concentración al 75% presentó un halo de  $6,93 \pm 0,36$  mm seguido de la concentración al 100% con un halo de  $9,46 \pm 0,40$  mm; existiendo diferencias significativas en los grupos control frente a la bacteria, excepto en el extracto hexánico al 50% y el control negativo. Concluyendo que las semillas de *Carica papaya* L presentan efecto antibacteriano (24).

Sánchez M, e Idrogo L. (2021), su objetivo fue evaluar el efecto antibacteriano del extracto etanólico y metanólico de la papaya frente *Staphylococcus aureus*, empleando la técnica de difusión en agar. Como resultados hallaron que las concentraciones al 50%, 75% y 100% presentaron halos de inhibición de  $15.1 \pm 0.07$  mm,  $15.7 \pm 0.06$  mm y  $16.6 \pm 0.06$  mm respectivamente; existiendo diferencias significativas en los tratamientos con los extractos tanto etanólico como metanólico. Concluyendo que todo el grupo control de *Carica papaya* L presentó efecto antibacteriano frente *Staphylococcus aureus* (25).

Adrianzen G, & Vásquez C. (2021), su objetivo fue evaluar la actividad antibacteriana in vitro de los extractos etanólicos de papaya frente *Escherichia coli*, mediante la técnica difusión en pozo de agar. Como resultados obtuvieron que las concentraciones al 50% y 100% presentaron halos de inhibición de  $10.28 \pm 0.28$  mm y  $13.78 \pm 0.35$  mm respectivamente; existiendo diferencias significativas en los grupos control frente a la cepa. Concluyendo que los extractos etanólicos al 50% y 100% de *Carica papaya* L presentan efecto antibacteriano (26).

La justificación teórica se basa en la búsqueda de fuentes naturales económicas y efectivas para tratar infecciones bacterianas, al mismo tiempo que contribuye a expandir nuestros conocimientos sobre las propiedades biológicas y fitoquímicas de las semillas de *Carica papaya*.



La presente investigación hace una contribución práctica al campo de la salud, debido a que servirá para comprobar de manera científica y contrarrestar problemas de índole infeccioso con un tratamiento alternativo frente a patologías de la piel, gastrointestinal y a nivel urinario

En el ámbito metodológico el presente estudio realizará la elaboración de un instrumento que servirá para recolectar los datos de los análisis fitoquímicos y microbiológicos, el cual corresponden de técnicas analíticas de laboratorio validadas y estandarizadas como la marcha fitoquímica y el método de difusión en agar.

Como objetivo se presenta lo siguiente: Determinar la actividad antibacteriana in vitro del extracto etanólico de semillas de *Carica papaya* L. (Papaya) frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Escherichia coli* ATCC 25922.

De tal manera se han formulado los siguientes objetivos específicos:

- Identificar los metabolitos secundarios que se encuentran en el extracto etanólico de semillas de *Carica papaya* L. (Papaya)
- Evaluar la actividad antibacteriana in vitro del extracto etanólico de semillas de *Carica papaya* L. (Papaya) frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Escherichia coli* ATCC 25922 en la concentración del 25%
- Evaluar la actividad antibacteriana in vitro del extracto etanólico de semillas de *Carica papaya* L. (Papaya) frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Escherichia coli* ATCC 25922 en la concentración del 50%
- Evaluar la actividad antibacteriana in vitro del extracto etanólico de semillas de *Carica papaya* L. (Papaya) frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Escherichia coli* ATCC 25922 en la concentración del 75%.
- Comparar la actividad antibacteriana in vitro del extracto etanólico de semillas de *Carica papaya* L. (Papaya) con fármaco de referencia frente *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Escherichia coli* ATCC 25922.

La hipótesis de la investigación se detalla a continuación: El extracto etanólico de semillas de semillas de *Carica papaya* L. (Papaya) presenta actividad antibacteriana frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Escherichia coli* ATCC 25922

Por otro lado, se propone las hipótesis específicas:

- El extracto etanólico de semillas de *Carica papaya* L. (Papaya) presenta metabolitos secundarios activos.
- El extracto etanólico de semillas de *Carica papaya* L. (Papaya) presenta actividad antibacteriana in vitro frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Escherichia coli* ATCC 25922 en la concentración del 25%
- El extracto etanólico de semillas de *Carica papaya* L. (Papaya) presenta actividad antibacteriana in vitro frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Escherichia coli* ATCC 25922 en la concentración del 50%
- El extracto etanólico de semillas de *Carica papaya* L. (Papaya) presenta actividad antibacteriana in vitro frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Escherichia coli* ATCC 25922 en la concentración del 75%
- La actividad antibacteriana del extracto etanólico de semillas de *Carica papaya* L. (Papaya) es mayor comparado con fármaco de referencia frente *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Escherichia coli* ATCC 25922

## II. MATERIALES Y MÉTODOS

### 2.1. Enfoque y diseño de la investigación.

El presente estudio fue de enfoque cuantitativo ya que los resultados fueron interpretados utilizando enfoques analíticos y numéricos; de diseño experimental debido a que los investigadores manipularon la variable independiente (extracto etanólico de semillas de *Carica papaya L.* - Papaya), para la evaluación de los resultados sobre la variable dependiente (actividad antibacteriana) y fue de tipo transversal porque las muestras se recolectaron en un momento determinado (27).

### 2.2. Población, muestra y muestreo.

10 kg de frutos de *Carica papaya L.* que se recolectaron en el distrito de Callería, provincia de coronel Portillo, Ciudad de Pucallpa, ubicada en el departamento de Ucayali a 157 m s. n. m. y coordenadas de 8°23'0" S, 74°33'0" W

La población microbiológica fueron cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Escherichia coli* ATCC 25922.

La muestra fue de 1 Kg de semillas de *Carica papaya L.*

#### **Criterios de inclusión:**

- ✓ Frutos en buen estado.
- ✓ Muestra vegetal con identificación taxonómica.

#### **Criterios de exclusión:**

- ✓ Frutos que presentes contaminación con microorganismos
- ✓ Frutos que no presenten estado de madurez

El tipo de muestreo fue No probabilístico por conveniencia.

### 2.3. Variables de investigación.

**Variable Independiente:** Extracto etanólico de semillas de *Carica papaya* L. (Papaya).

**Definición conceptual:** Fracción líquida obtenido de la maceración etanólica de semillas de *Carica papaya* L. (28)

**Definición operacional:** Técnica de maceración etanólica de semillas de *Carica papaya* L.

**Variable dependiente:** Actividad antibacteriana in vitro frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Escherichia coli* ATCC 25922

**Definición conceptual:** Capacidad el extracto etanólico de inhibir el crecimiento bacteriano.

**Definición operacional:** Se obtuvo mediante el método de difusión en agar el cual realizó la lectura de los halos de inhibición por medio del uso del vernier.

### 2.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos.

La técnica usada fue la observación. En relación con los procedimientos fitoquímicos se realizó la marcha fitoquímica y en base al análisis microbiológico se usó la técnica de método por difusión en agar - Kirby-Bauer (29).

El instrumento fue la ficha de observación el cual se empleó para la recopilación de datos de los análisis fitoquímicos y microbiológicos (29).

### 2.5. Plan de recolección de datos.

#### 2.5.1. Autorización y recolección de la especie vegetal.

Las semillas de *Carica papaya* L. se recolectaron en el distrito de Callería, capital de Pucallpa, provincia de Coronel Portillo, ubicada en el departamento de Ucayali solicitando el permiso correspondiente a la zona de recolección.

### **2.5.2. Identificación de la especie vegetal.**

El reconocimiento de la especie vegetal en relación a la parte taxonómica fue realizado por un biólogo taxónomo especialista el cual proporcionó un certificado confirmatorio de la especie *Carica papaya* L. (Papaya).

### **2.5.3. Preparación de la droga vegetal.**

Las muestras de *Carica papaya* L. (Papaya) se lavaron y se cortaron los frutos para retirar las semillas correspondientes de manera cuidadosa con un material de acero inoxidable.

La limpieza de las semillas se realizó con agua potable con la finalidad de retirar los restos de pulpa de fruta, luego se expuso a temperatura ambiente por un aproximado de 2 horas (24).

Luego se continuó a lavar las semillas con agua destilada. Posteriormente para la deshidratación las semillas de *Carica papaya* L. (Papaya) se colocaron en una bandeja de vidrio el cual fue llevado a una estufa a temperatura de 40° por 12 horas hasta obtener una deshidratación total de la muestra (26).

Luego se procedió a moler las semillas para realizar la maceración de la muestra.

### **2.5.4. Preparación del extracto etanólico.**

Para la maceración de las semillas de *Carica papaya* L. (Papaya) se utilizó un frasco con boca ancha color ámbar, y alcohol etílico al 96 %, el solvente de tipo alcohol sirvió para extraer los metabolitos primarios y secundarios. La técnica que se usó es la maceración dinámica por 5 días. Se filtró y se llevó a eliminar el solvente a estufa a 40° por 24 a 48 horas con la finalidad de obtener el extracto seco para la realización de las pruebas posteriores (25). Finalmente se procedió a obtener el porcentaje de rendimiento.

### **Prueba de solubilidad**

Se utilizó 0,5 g del extracto seco y 1 mL de los siguientes disolventes: Éter de petróleo, diclorometano, cloroformo, butanol, etanol de 70°, metanol, agua destilada y dimetilsulfóxido (25).

### **Marcha fitoquímica del extracto**

El tamizaje fitoquímico preliminar se realizó según la técnica de Olga Lock, para ello se utilizaron 14 tubos de ensayo con 1ml del extracto fluido y los siguientes reactivos: Baljet (Lactonas  $\alpha$ ,  $\beta$  insaturadas), Dragendorff (Alcaloides), Gelatina-sal (Taninos), Fehling A y B (Azúcares reductores), Benedict (Azúcares reductores), NaOH 10 % (Antocianinas), Cloruro férrico (Compuestos fenólicos), Shinoda (Flavonoides), Liebermann-Burchard (Triterpenos y esteroides), Gelatina (Taninos), Wagner (Alcaloides), Índice Afro simétrico (Saponinas), Borntrager (Quinonas) y Mayer (Alcaloides) (30).

## **2.5.5. Ensayo microbiológico.**

### **Activación de las cepas**

Este proceso se llevó a cabo utilizando Kwik-stik, el procedimiento consistió en presionar la ampolla ubicada en la parte superior del contenedor y dejar salir el líquido hidratante hacia la parte inferior. Al finalizar este proceso se tomó una muestra de la solución obtenida y se traspasó en 5 mL de caldo soya tripticasa (31).

**Activación de las cepas:** Para ello se preparó una suspensión directa de la cepa y se ajustó la turbidez de este según la escala 0,5 de McFarland ( $1,5 \times 10^8$  UFC/mL) (32).

**Inoculación de las Placas:** Se realizó en placas con agar Mueller-Hinton, el cual se preparó según las indicaciones del fabricante. La cepa se sembró con el uso de un asa de siembra debidamente esterilizada mediante la técnica de estrías cruzadas para garantizar un sembrado más uniforme por el medio de cultivo (17).

**Preparación de los pozos:** Estos se prepararon en las placas con un diámetro de 6 mm con una material de acero inoxidable el cual fue esterilizado, finalmente se agregaron a estos con las siguientes sustancias para realizar la técnica de Difusión en agar (17).

- ✓ Grupo extracto etanólico de semillas de *Carica papaya* L. al 25 %
- ✓ Grupo extracto etanólico de semillas de *Carica papaya* L. al 50 %.
- ✓ Grupo extracto etanólico de semillas de *Carica papaya* L. al 75 %
- ✓ Grupo control: Discos de ciprofloxacino 5 µg.
- ✓ Grupo control: Dimetilsulfoxido

Luego se procedió a llevar a incubar la totalidad de placas, en la estufa a 37°C de 24 a 48 horas. Finalmente, estos resultados se evaluaron mediante la “Escala de Duraffourd” (17).

## **2.6. Métodos de análisis estadísticos**

Los resultados del análisis del laboratorio se procesarán en Excel, posteriormente se empleará un software estadístico de tipo (SPSS) versión 27, así mismo se utilizarán estadísticos descriptivos a través de tablas y gráficos y pruebas inferenciales para contrastar la hipótesis del estudio el cual corresponde a (ANOVA) y test de Tukey.

## **2.7. Aspectos éticos**

En la investigación se usó buenas prácticas de laboratorio, así mismo los procedimientos y protocolos de eliminación de residuos; y técnicas validadas y estandarizadas.

### III. RESULTADOS

Los análisis realizados al extracto etanólico de semillas de *Carica papaya* L. (papaya) corresponden a la prueba de solubilidad, tamizaje fitoquímico y el análisis microbiológico por el método de difusión en pozos (Kirby Bauer), el cual se detallan a continuación:

#### 3.1 Prueba de Solubilidad

**Tabla 1.** Análisis de solubilidad

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

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

El extracto de semillas de *Carica papaya* L. (papaya) mostró alta solubilidad en etanol 96° y dimetilsulfóxido, pero baja solubilidad en éter de petróleo, diclorometano, cloroformo, butanol, etanol 70° y metanol. Por otro lado, el extracto no se disolvió en agua destilada.



### 3.2 Tamizaje Fitoquímico

**Tabla 2.** Análisis fitoquímico

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

(-): Ausencia; (+): Mínima; (++): Mediana (+++): Abundante presencia

Los resultados del análisis fitoquímico del extracto etanólico de semillas de *Carica papaya L.* (papaya) mostraron la abundante presencia de compuestos fenólicos, seguido de una mediana presencia para las lactonas  $\alpha$ ,  $\beta$ -insaturadas, taninos, azúcares reductores y saponinas, de igual importancia presentó la mínima presencia de antraquinonas, terpenos y esteroides, alcaloides, taninos, antocianinas, azúcares reductores y flavonoides.

### 3.3 Ensayo microbiológico

**Tabla 3.** Halos de inhibición de ensayo microbiológico en *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Microorganismo	Diámetros de inhibición en mm				
	75%	50%	25%	Ciprofloxacino 5 ug	DMSO
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	7.95	7.56	6	36.14	6
	7.93	7.52	6	36.13	6
	7.86	7.54	6	36.14	6
	7.98	7.55	6	36.15	6
	7.97	7.58	6	36.13	6
	7.97	7.58	6	36.13	6
<b>Media</b>	<b>7.94</b>	<b>7.56</b>	<b>6</b>	<b>36.14</b>	<b>6</b>
<i>Staphylococcus</i> <i>aureus</i> ATCC 25923	9.24	8.24	6	30.11	6
	9.22	8.21	6	29.98	6
	9.27	8.23	6	30.07	6
	9.26	8.25	6	30.10	6
	9.25	8.23	6	29.96	6
<b>Media</b>	<b>9.25</b>	<b>8.23</b>	<b>6</b>	<b>30.04</b>	<b>6</b>

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

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

Los resultados del ensayo microbiológico in vitro se presentan en la tabla 3. Se observó que el grupo que obtuvo el mayor halo de inhibición medio fue el de Ciprofloxacino 5 ug con 36.14 mm contra *E. coli* ATCC 25922. Sin embargo, el extracto etanólico de semillas de *Carica papaya* L. (papaya) al 75% mostró un halo de inhibición medio de 7.94 mm, seguido por el extracto al 50% con 7.56 mm. No se observaron halos de inhibición con el extracto al 25%.

En contraste, en el ensayo contra *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, se observó que el Ciprofloxacino generó el mayor halo de inhibición medio con 30.04 mm. Además, el extracto etanólico de semillas de papaya al 75% presentó un halo de inhibición medio de 9.25 mm, seguido por el extracto al 50% con 8.23 mm. No se observó ningún halo de inhibición con el extracto al 25%.

**Tabla 4.** Estadísticos descriptivos

Descriptivos	Estadísticos	
	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923
<b>Media</b>	12,7270	11,9048
<b>Error estándar de la media</b>	2,17850	1,86931
<b>Mediana</b>	7,5550	8,2300
<b>Moda</b>	6,00	6,00
<b>Desv. Desviación</b>	11,93216	9,34653
<b>Varianza</b>	142,376	87,358
<b>Asimetría</b>	1,562	1,522
<b>Error estándar de asimetría</b>	,427	,464
<b>Curtosis</b>	,500	,475
<b>Error estándar de curtosis</b>	,833	,902
<b>Rango</b>	30,15	24,11

La Tabla 4 muestra la estadística descriptiva con un nivel de confianza del 95% para las medidas de tendencia central (media, mediana, moda) y de dispersión (rango, desviación estándar, varianza) correspondientes.

**Tabla 5.** Comparación de medias por el ANOVA

		ANOVA				
		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
<b><i>Escherichia coli</i> ATCC 25922</b>	Entre grupos	4,128,904	4	1,032,226	1,982,508,137	<b>0,000</b>
	Dentro de grupos	,013	25	,001		
	<b>Total</b>	<b>4,128,917</b>	<b>29</b>			
<b><i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923</b>	Entre grupos	2096.560	4	524.140	483523.926	<b>0.000</b>
	Dentro de grupos	0.022	20	0.001		
	<b>Total</b>	<b>2096.581</b>	<b>24</b>			

En la Tabla 5 se observó que el  $p < 0.05$  para los resultados del análisis microbiológico in vitro utilizando las cepas bacterianas de *E. coli* ATCC 25922 y *St. aureus* ATCC 25923. Esto indica que existió una diferencia estadísticamente significativa en los halos de inhibición promedio entre los grupos experimentales (25%, 50% y 75%) y los controles en el ensayo microbiológico, según el análisis de varianza (ANOVA).

**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
<b><i>Escherichia coli</i> ATCC 25922</b>	Ciprofloxacino 5 ug	DMSO	30,13667*	0.01317	0.000	30.0980	30.1754
		25%	30,13667*	0.01317	0.000	30.0980	30.1754
		50%	28,58167*	0.01317	0.000	28.5430	28.6204
		75%	28,19333*	0.01317	0.000	28.1546	28.2320
		Ciprofloxacino 5 ug	-30,13667*	0.01317	0.000	-30.1754	-30.0980
	DMSO	25%	0.00000	0.01317	1.000	-0.0387	0.0387
		50%	-1,55500*	0.01317	0.000	-1.5937	-1.5163
		75%	-1,94333*	0.01317	0.000	-1.9820	-1.9046
	<b><i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923</b>	Ciprofloxacino 5 ug	DMSO	24,04400*	0.02082	0.000	23.9817
25%			24,04400*	0.02082	0.000	23.9817	24.1063
50%			21,81200*	0.02082	0.000	21.7497	21.8743
75%			20,79600*	0.02082	0.000	20.7337	20.8583
Ciprofloxacino 5 ug			-24,04400*	0.02082	0.000	-24.1063	-23.9817
DMSO		25%	0.00000	0.02082	1.000	-0.0623	0.0623
		50%	-2,23200*	0.02082	0.000	-2.2943	-2.1697
		75%	-3,24800*	0.02082	0.000	-3.3103	-3.1857

En el análisis estadístico por Tukey frente la cepa *Escherichia coli* ATCC 25922, en comparación de las medias del grupo control positivo (Ciprofloxacino 5 ug) y los grupos experimentales (25%, 50% y 75%) se evidenció que existen diferencias estadísticamente significativas con un  $p < 0.05$ , el cual fue a favor del grupo control positivo.

De igual importancia, en el análisis frente la cepa *Escherichia coli* ATCC 25922, en la comparación de las medias del grupo control negativo (DMSO) y los grupos experimentales (25%, 50% y 75%) se evidenció que existen diferencias estadísticamente significativas con un  $p < 0.05$ , en las concentraciones del 50% y 75%) y  $p > 0.05$  con el grupo experimental del 25%, sin embargo mediante la comparación con la escala de Duraffourd ninguna de las concentraciones tiene actividad antibacteriana al no cumplir con la sensibilidad límite.

Por otro lado, en el análisis estadístico por Tukey frente la cepa *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, en comparación de las medias del grupo control positivo (Ciprofloxacino 5 ug) y los grupos experimentales (25%, 50% y 75%) se evidenció que existen diferencias estadísticamente significativas con un  $p < 0.05$ , el cual fue a favor del grupo control positivo.

De igual importancia, en el análisis frente la cepa *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, en la comparación de las medias del grupo control negativo (DMSO) y los grupos experimentales (25%, 50% y 75%) se evidenció que existen diferencias estadísticamente significativas con un  $p < 0.05$  en las concentraciones del (50% y 75%) y  $p > 0.05$  con el grupo experimental del 25%, esto se interpreta según la escala de Duraffourd que existe actividad antibacteriana en las concentraciones del 50% y 75%.

## IV DISCUSIÓN

### 4.1 Discusión de resultados

La papaya es una planta que se utiliza comúnmente en la alimentación, sin embargo, se ha demostrado su potencial medicinal mediante la aplicación de extractos y aceites en cultivos microbiológicos. En este estudio, se discuten los resultados obtenidos al identificar los efectos de los extractos etanólico de las semillas de *Carica papaya L.* (papaya) frente *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Escherichia coli* ATCC 25922.

Durante el primer ensayo, se llevó a cabo la prueba de solubilidad, la cual arrojó que el extracto etanólico de la semilla de papaya presentó una alta solubilidad en etanol 96 y dimetilsulfóxido, una baja solubilidad en Éter de petróleo, diclorometano, cloroformo, butanol, Etanol 70° y metanol. Estos resultados pueden explicarse por la polaridad, semejanza química y tamaño estructural del extracto, y coinciden con el estudio realizado por Adrianzen G, & Vásquez C. (2021), en el que se evaluó la solubilidad de las semillas de *Carica papaya L.* y se observaron resultados similares para solventes como el etanol y dimetilsulfóxido (26).

En cuanto al tamizaje fitoquímico, se identificó mayor presencia de compuestos fenólicos, seguido de una mediana presencia para las lactonas  $\alpha$ ,  $\beta$ -insaturadas, taninos, azúcares reductores y saponinas. La metodología utilizada para el tamizaje fue de Olga Lock. Estos resultados son similares al estudio de Dotto J, & Abihudi S. (2020) quienes identificaron en la composición fitoquímica de las semillas de *Carica papaya L.* (papaya) la presencia de compuestos fenólicos ya que son responsables del efecto antibacteriano de la semilla frente a *Staphylococcus aureus*, y sugiere que esta planta puede tener un gran potencial como agente antibacteriano en combinación con otros medicamentos (22). Aunque se utilizaron diferentes métodos para evaluar el efecto antibacteriano de la planta en ambos estudios, ambos llegaron a la misma conclusión, que demuestra de manera consistente el potencial antibacteriano de esta semilla.

De igual manera, respecto ensayo microbiológico in vitro realizado para evaluar la actividad antibacteriana del extracto etanólico de las semillas de *Carica papaya L.*, (papaya) a diferentes concentraciones (25%, 50% y 75%) contra *Escherichia coli* ATCC 25922 identificó que el extracto al 75% generó un efecto inhibitorio promedio de 7,94 mm, mientras que el extracto al 50% produjo efecto inhibitorio de 7,56 mm y el 25% no presentó efecto inhibitorio. Se observaron diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ) entre los tres grupos experimentales según las pruebas estadísticas de ANOVA y Tukey.

En el ensayo contra la cepa bacteriana *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 presentó halos de inhibición medio de 9,25 mm al extracto al 75%, seguido del extracto al 50% con 8,23 mm. Según la escala de Duraffourd, esta cepa bacteriana fue sensible al extracto del 75% y 50% siendo resistente y al 25% el cual no presentó efecto inhibitorio. El estudio realizado por Sánchez M, e Idrogo L. (2021) quién evaluó el efecto antibacteriano del extracto etanólico de la papaya frente a *S. aureus* hallaron que las concentraciones al 50%, 75% y 100% obtuvo halos de inhibición de 15,1, 15,7 y 16,6 el cual fueron “Muy sensibles” (25).

Los resultados hallados coinciden con la investigación de Gálvez D. y Ayasta V (2022) con los resultados del presente estudio al haberse obtenido halos de inhibición de  $6,93 \pm 0,36$  mm a la concentración del 75% y  $9,46 \pm 0,40$  mm al 100% sobre las cepas *Staphylococcus aureus*, categorizándolos según la escala de Duraffourd como “Sensible” (24). Esto indicó que en ambas investigaciones el ciprofloxacino 5 ug tuvo un predominante mayor halo de inhibición.

Este estudio apoya los hallazgos de la investigación anteriormente discutida, que también demostró la actividad antibacteriana del extracto etanólico de semillas de papaya contra *S. aureus* y *E. coli*. Sin embargo, este estudio proporciona una evaluación más específica de la actividad antibacteriana, lo que sugiere que el extracto de papaya puede ser una alternativa prometedora para combatir las infecciones bacterianas resistentes a los fármacos.



## 4.2. Conclusiones

- El extracto etanólico de las semillas de *Carica papaya* L. (Papaya) presentó efecto antibacteriano frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y no presentó actividad frente *Escherichia coli* ATCC 25922.
- Los tipos de metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de semillas de *Carica papaya* L. (Papaya) responsables de la actividad antibacteriana fueron compuestos fenólicos, lactonas  $\alpha$ ,  $\beta$ -insaturadas, taninos, saponinas, flavonoides y alcaloides.
- La concentración que presentó actividad antibacteriana del extracto etanólico de semillas de *Carica papaya* L. (Papaya) frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 fue del 50% y el 75%, por otro lado, ninguna de las concentraciones presentó actividad frente *Escherichia coli* ATCC 25922.
- El extracto etanólico de semillas de *Carica papaya* L. (Papaya) a concentraciones del 25 %, 50% y 75 % no superaron el efecto inhibitor del ciprofloxacino frente cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Escherichia coli* ATCC 25922.

### 4.3. Recomendaciones

- Realizar estudios instrumentales para identificar los componentes bioactivos del extracto de semillas y cascara de papaya.
- Determinar la actividad antibacteriana de otros extractos de *Carica papaya* L. Además del extracto etanólico, la papaya tiene otros extractos que también podrían tener actividad antibacteriana. Se podría investigar la actividad antibacteriana in vitro de otros extractos de papaya (por ejemplo, extractos acuosos, extractos alcohólicos, etc.) contra las mismas bacterias.
- Evaluar la actividad antibacteriana del extracto etanólico de *Carica papaya* L. en combinación con otros antimicrobianos: Se podría investigar si el extracto etanólico de papaya tiene efectos sinérgicos con otros antimicrobianos para mejorar la eficacia de los tratamientos contra infecciones bacterianas.
- Estudiar la actividad antibacteriana in vitro del extracto etanólico de *Carica papaya* L. en diferentes condiciones de cultivo: Es posible que el extracto etanólico de semillas de papaya tenga una actividad antibacteriana diferente bajo otras técnicas microbiológicas.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Asadi M, Habibi M BS. Urinary tract infection: Pathogenicity, antibiotic resistance and development of effective vaccines against Uropathogenic Escherichia coli. Mol Immunol [Internet]. 2019;108(1):56–67. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30784763/>
2. Yunlei G et al. Prevalence and Therapies of Antibiotic-Resistance in Staphylococcus aureus. Front Cell Infect Microbiol [Internet]. 2020;10(107):1–11. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32257966/>
3. Haiying C et al. Antibacterial mechanism of oregano essential oil. Ind Crops Prod [Internet]. 2019;139(1):1–9. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0926669019305102>
4. Francia 24. Las infecciones de las 33 bacterias más comunes son la segunda causa de muerte en el mundo [Internet]. 22 de noviembre. 2022. Available from: <https://www.france24.com/es/programas/salud/20221122-las-infecciones-de-las-33-bacterias-más-comunes-son-la-segunda-causa-de-muerte-en-el-mundo>
5. Pasachova J et al. Staphylococcus aureus: generalidades, mecanismos de patogenicidad y colonización celular. Nova [Internet]. 2019;17(32):25–38. Available from: [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1794-24702019000200025](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1794-24702019000200025)
6. The Conversation. Un recuerdo no deseado de las vacaciones: la diarrea del viajero [Internet]. 15 de julio. 2022. Available from: <https://theconversation.com/un-recuerdo-no-deseado-de-las-vacaciones-la-diarrea-del-viajero-186307>
7. Ismail H et al. Surveillance and comparison of antimicrobial susceptibility patterns of ESKAPE organisms isolated from patients with bacteraemia in South Africa, 2016 - 2017. South African Med J [Internet]. 2019;109(12):934–40. Available from: [http://www.scielo.org.za/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0256-](http://www.scielo.org.za/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0256-)

95742019001200010&lang=es

8. Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades. Las infecciones mortales por estafilococo siguen siendo una amenaza en los EE. UU. [Internet]. 05 de marzo. 2019. Available from: [https://www.cdc.gov/spanish/mediosdecomunicacion/comunicados/p\\_vs\\_estafilococo\\_030519.html](https://www.cdc.gov/spanish/mediosdecomunicacion/comunicados/p_vs_estafilococo_030519.html)
9. El Tiempo Latino. Brote de la bacteria E. coli afecta a seis estados de EEUU [Internet]. 05 de septiembre. 2022. Available from: <https://eltiempolatino.com/2022/09/05/salud/brote-de-e-coli-afecta-a-seis-estados-de-eeuu/>
10. EL FINANCIERO. ¿Es el calor o el COVID? Esta es la razón del aumento de casos de diarrea en México [Internet]. 20 de julio. 2022. Available from: <https://www.elfinanciero.com.mx/salud/2022/07/20/es-el-calor-o-el-covid-esta-es-la-razon-por-la-que-han-aumentado-los-casos-de-diarrea-en-mexico/>
11. Miranda J et al. Resistencia antimicrobiana de uropatógenos en adultos mayores de una clínica privada de Lima, Perú. Rev Peru Med Exp Salud Publica [Internet]. 2019;36(1):87–92. Available from: <https://rpmesp.ins.gob.pe/index.php/rpmesp/article/view/3765>
12. Ministerio de salud del Perú. La resistencia antimicrobiana [Internet]. 24 de diciembre. 2022. Available from: <https://www.gob.pe/15585-la-resistencia-antimicrobiana>
13. Frick M et al. Infecciones por Staphylococcus aureus resistente a Meticilina en niños adquirida en la comunidad. Reporte de casos. Rev la Univ Ind Santander Salud [Internet]. 2021;53(1):1–6. Available from: [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0121-08072021000100600](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0121-08072021000100600)
14. BBC News Mundo. Las impactantes cifras que deja el desperdicio de comida en el mundo (y cuáles son sus efectos) [Internet]. 15 de marzo. 2021. Available from: <https://www.bbc.com/mundo/noticias-56322961>

15. Landrigan P et al. Human health and ocean pollution. *Ann Glob Heal* [Internet]. 2020;86(1):1–64. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33354517/>
16. Ahmad-Mansour N et al. Staphylococcus aureus Toxins: An Update on Their Pathogenic Properties and Potential Treatments. *Toxins (Basel)* [Internet]. 2021;13(10):1–22. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34678970/>
17. Moreno M. Efecto antibacteriano in vitro de extractos etanólicos de orégano, tomillo y salvia sobre cepas de Staphylococcus aureus, Escherichia coli y Pseudomonas aeruginosa con resistencia múltiple [Internet]. 2020. Available from: [http://repositorio.unprg.edu.pe/bitstream/handle/UNPRG/8421/BC-4824 MORENO MANTILLA.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.unprg.edu.pe/bitstream/handle/UNPRG/8421/BC-4824%20MORENO%20MANTILLA.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
18. Quispe C CD. Contaminación con Escherichia coli en tipos de aderezos expendidos en puestos de comida de un mercado de Huancayo – 2020 [Internet]. 2021. Available from: <https://repositorio.upla.edu.pe/handle/20.500.12848/3116>
19. Ziwei Z et al. Papaya (Carica papaya L.) Flavour Profiling. *Genes (Basel)* [Internet]. 2021;12(9):1–10. Available from: <https://www.mdpi.com/2073-4425/12/9/1416>
20. Hariono M et al. The Future of Carica papaya Leaf Extract as an Herbal Medicine Product. *Molecules* [Internet]. 2021;26(22):1–20. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34834014/>
21. Li P et al. Antibacterial activity and main action pathway of benzyl isothiocyanate extracted from papaya seeds. *J Food Sci.* 2021;86(1):169–76.
22. Dotto J AS. Nutraceutical value of Carica papaya: A review. *Sci African* [Internet]. 2021;13(1):1–15. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2468227621002374?via%3Dihub>
23. Sugiyarto et al. Antibacterial activity of ethyl acetate and n-hexane fractions

- of *Carica pubescens* rind and seeds. AIP Conf Proc [Internet]. 2019;1(1):1–8. Available from: <https://aip.scitation.org/doi/abs/10.1063/1.5061898>
24. Galvez M A V. Actividad Antibacteriana In vitro del Extracto Hexánico de las Semillas de *Carica papaya* L. (Papaya) frente a *Staphylococcus aureus* ATCC N°25923 [Internet]. 2022. Available from: <https://repositorio.uma.edu.pe/handle/20.500.12970/1118>
  25. Sánchez M IL. Efecto antibacteriano de los extractos etanólicos y metanólicos de *Carica papaya* “Papaya” sobre *Staphylococcus aureus* [Internet]. 2021. Available from: <https://repositorio.uma.edu.pe/handle/20.500.12970/413>
  26. Adriaen G VC. Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de *Carica papaya* (papaya) frente a *Escherichia coli* – Chiclayo 2021 [Internet]. 2022. Available from: <https://repositorio.uroosevelt.edu.pe/handle/20.500.14140/739>
  27. Guija M, Guija R. Metodología de la investigación Científica. 1st ed. Lima: Editorial USMP; 2019. 166 p.
  28. Hernandez R, Mendoza C. Metodología de la Investigación. Ciudad de México: Mc Graw Hill; 2018. 714 p.
  29. Gallardo E. Metodología de la Investigación. 1 ed. Huancayo: Universidad Continental; 2017. 96 p.
  30. Lock O. Investigación fitoquímica: métodos en el estudio de productos naturales. 3rd ed. Lima: Pontificia Universidad Católica del Perú; 2016. 287 p.
  31. Cheung G, Bae J, Otto M. Pathogenicity and virulence of *Staphylococcus aureus*. Virulence [Internet]. 2021;12(1):547–69. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7872022/>
  32. Djabayan P, Gonzalez L, Lucena M, Valarezo M. Aislamiento y actividad biológica de lectinas obtenidas de semillas de frutas, granos y tubérculos de plantas andinas. Inf Tecnol [Internet]. 2022;33(2):21–36. Available from:

[https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0718-07642022000200021&lng=es&nrm=iso&tlng=es](https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718-07642022000200021&lng=es&nrm=iso&tlng=es)

## ANEXOS

### ANEXO A. Instrumentos de recolección de datos

#### ENSAYO MICROBIOLÓGICO

N°	Frente <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923				
	Control	Ciprofloxacino 5 µg	Ext 25 %	Ext 50 %	Ext 75 %
1					
2					
3					
4					
5					
Frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922					
N°	Control	Ciprofloxacino 5 µg	Ext 25 %	Ext 50 %	Ext 75 %
1					
2					
3					
4					
5					



**Tabla B: Prueba de Tamizaje Fitoquímico**

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

**Leyenda:**

(-) Ausente

(+) Escaso

(++) Leve

(+++) Moderado

**Tabla C: Ensayo de Solubilidad**

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

**Leyenda:**

Insoluble: (-)

Poco soluble: (+)

Medianamente soluble: (++)

Muy soluble: (+++)

## ANEXO B. Matriz de consistencia

Formulación del problema	Objetivos	Hipótesis
<b>Problema General</b>	<b>Objetivo General</b>	<b>Hipótesis General</b>
¿Presentará actividad antibacteriana in vitro el extracto etanólico de semillas de <i>Carica papaya</i> L. (Papaya) frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 y <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922?	Determinar la actividad antibacteriana in vitro del extracto etanólico de semillas de <i>Carica papaya</i> L. (Papaya) frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 y <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922.	El extracto etanólico de semillas de <i>Carica papaya</i> L. (Papaya) presenta actividad antibacteriana frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 y <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922
<b>Problemas Específicos</b>	<b>Objetivos Específicos</b>	<b>Hipótesis Específicas</b>
¿Qué metabolitos secundarios tiene el extracto etanólico de semillas de <i>Carica papaya</i> L. (Papaya)?	Identificar los metabolitos secundarios que se encuentran en el extracto etanólico de semillas de <i>Carica papaya</i> L. (Papaya)	El extracto etanólico de semillas de <i>Carica papaya</i> L. (Papaya) presenta metabolitos secundarios activos
¿El extracto etanólico de semillas de <i>Carica papaya</i> L. (Papaya) tendrá actividad antibacteriana in vitro frente <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 y <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 en la concentración del 25%?	Evaluar la actividad antibacteriana in vitro del extracto etanólico de semillas de <i>Carica papaya</i> L. (Papaya) frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 y <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 en la concentración del 25%	El extracto etanólico de semillas de <i>Carica papaya</i> L. (Papaya) presenta actividad antibacteriana in vitro frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 y <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 en la concentración del 25%
¿El extracto etanólico de semillas de <i>Carica papaya</i> L. (Papaya) tendrá actividad antibacteriana in vitro frente <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 y <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 en la concentración del 50%?	Evaluar la actividad antibacteriana in vitro del extracto etanólico de semillas de <i>Carica papaya</i> L. (Papaya) frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 y <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 en la concentración del 50%	El extracto etanólico de semillas de <i>Carica papaya</i> L. (Papaya) presenta actividad antibacteriana in vitro frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 y <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 en la concentración del 50%
¿El extracto etanólico de semillas de <i>Carica papaya</i> L. (Papaya) tendrá actividad antibacteriana in vitro frente <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 y <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 en la concentración del 75%?	Evaluar la actividad antibacteriana in vitro del extracto etanólico de semillas de <i>Carica papaya</i> L. (Papaya) frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 y <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 en la concentración del 75%	El extracto etanólico de semillas de <i>Carica papaya</i> L. (Papaya) presenta actividad antibacteriana in vitro frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 y <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 en la concentración del 75%
¿Cuál es la actividad antibacteriana in vitro del extracto etanólico de semillas de <i>Carica papaya</i> L. (Papaya) comparado con fármaco de referencia frente <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 y <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922?	Comparar la actividad antibacteriana in vitro del extracto etanólico de semillas de <i>Carica papaya</i> L. (Papaya) con fármaco de referencia frente <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 y <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922.	La actividad antibacteriana del extracto etanólico de semillas de <i>Carica papaya</i> L. (Papaya) es mayor comparado con fármaco de referencia frente <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 y <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922.

### ANEXO C. Operacionalización de las variables

VARIABLES	DIMENSIONES	INDICADORES	ESCALA DE MEDICIÓN	VALOR
<p>VARIABLE INDEPENDIENTE</p> <p>Extracto etanólico de semillas de <i>Carica papaya</i> L. (Papaya)</p>	<p>Ensayo fitoquímico</p>	<p>Marcha fitoquímica</p>	<p>Ordinal</p>	<p>(-) Ausente                      (+) Leve                      (++) Moderado                      (+++) Abundante</p>
<p>VARIABLE DEPENDIENTE</p> <p>Actividad antibacteriana in vitro frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 y <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922</p>	<p>Ensayo microbiológico</p>	<p>Medición de diámetro inhibición (mm)</p>	<p>Razón</p>	<p>&lt;8 mm: nulo (-)                      8 – 14 mm: Sensible (+)                      14 – 20 mm: Muy sensible (++)                      &gt;20 mm: Sumamente sensible (+++)</p>

## ANEXO D. Certificado Taxonómico

JOSÉ R. CAMPOS DE LA CRUZ  
CONSULTOR BOTÁNICO  
C. B. P. 3796  
Cel: 963689079  
Email: jocamde@gmail.com



### CERTIFICACION DE IDENTIFICACION BOTANICA

JOSÉ RICARDO CAMPOS DE LA CRUZ, BIÓLOGO COLEGIADO, CBP 3796 – INSCRITO EN EL REGISTRO DE PROFESIONALES QUE REALIZAN CERTIFICACIONES DE IDENTIFICACION TAXONÓMICA DE ESPECÍMENES Y PRODUCTOS DE FLORA – RESOLUCIÓN DIRECTORAL N.º 0311-2013-MINAGRI-DGFFS-DGEFFS.

#### CERTIFICA:

Que, las Bachilleres ALARCÓN VARGAS MACHUCA, PAMELA NICOLE y MUÑOZ BEDRIÑANA, PRISCILLA EDUVIGES, tesisistas de la Universidad María Auxiliadora, Facultad de Ciencias de la Salud, Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, con fines de investigación para desarrollar el proyecto de tesis titulado: ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA IN VITRO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE SEMILLAS DE *Carica papaya* L. (PAPAYA) FRENTE A *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 Y *Escherichia coli* ATCC 25922, han solicitado la identificación y certificación botánica de la planta cultivada conocida con el nombre común de “papaya”, la muestra de semillas ha sido identificada como *Carica papaya* L. Según la base de datos de W<sup>3</sup>Tropicos del Missouri Botanical Garden que sigue el sistema moderno de clasificación de las angiospermas (APG), publicado en 1998 por el Grupo para la Filogenia de las Angiospermas, el sistema APG evita el uso de la nomenclatura taxonómica clásica por arriba de orden. - Mark W. Chase & James L. Reveal (2009 – APG III) consideran a todas las plantas verdes en la Clase Equisetopsida. Teniendo en cuenta los datos de la base de W<sup>3</sup>Tropicos, APG III y APG IV, la especie identificada tiene las siguientes categorías taxonómicas y clados:

Reino: Plantae  
División: Angiospermae  
Clase: Equisetopsida  
Subclase: Magnoliidae  
Superorden: Rosanae  
Orden: Brassicales  
Familia: Caricaceae  
Género: *Carica*  
Especie: *Carica papaya* L.

Nombre vulgar: “papaya”

Se expide la presente certificación para los fines de investigación.

Lima, 10 de junio del 2023

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

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

## ANEXO E. Informe de Análisis de Laboratorio



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

### Informe de Resultados

Solicitado por: Alarcón Vargas Machuca, Pamela Nicole  
Muñoz Bedriñana, Priscilla Eduviges  
Muestra: Extracto etanólico de semillas de *Carica papaya L. (papaya)*  
Cantidad: 5.20 gr  
Fecha de ensayo: 25-02-2023

Microorganismo	Diámetros de inhibición en mm				
	75%	50%	25%	Ciprofloxacino 5 ug	DMSO
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	7.95	7.56	6	36.14	6
	7.93	7.52	6	36.13	6
	7.86	7.54	6	36.14	6
	7.98	7.55	6	36.15	6
	7.97	7.58	6	36.13	6
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	9.24	8.24	6	30.11	6
	9.22	8.21	6	29.98	6
	9.27	8.23	6	30.07	6
	9.26	8.25	6	30.10	6
	9.25	8.23	6	29.96	6

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

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

Lic. T.M. Walter A. Sili Rodríguez

CTMP. 10808

## ANEXO F. Certificado de Agar Mueller Hinton



Certified : ISO 9001:2015, ISO 13485:2012 , 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

<b>Material Code : M173</b>	<b>Material Name :</b> Mueller Hinton Agar	<b>Lot No : 0000357521</b>
<b>Report No.: 040000849057</b>	<b>Date of Release &amp; Report : 2018-09-24</b>	<b>Expiry Date : 2023-09</b>

#### 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 : 7.39

#### 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% CO<sub>2</sub> For testing *H.influenzae* : 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% CO<sub>2</sub>

#### 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
<b>Escherichia coli ATCC 25922</b>						
<i>Growth promoting</i>	85	luxuriant	72	84%	-	-
<i>Amoxycylav AMC 30 mcg</i>	-	-	-	-	18-24 mm	22mm
<i>Ampicillin AMP 10 mcg</i>	-	-	-	-	16-22 mm	21mm
<i>Cefotaxime CTX 30 mcg</i>	-	-	-	-	29-35 mm	33mm
<i>Cefoxitin CX 30 mcg</i>	-	-	-	-	23-29 mm	28mm
<i>Cephalothin CEP 30mcg</i>	-	-	-	-	15-21 mm	20mm

**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**

<b>Material Code : M173</b>	<b>Material Name : Mueller Hinton Agar</b>	<b>Lot No : 0000357521</b>
<b>Report No.: 04000849057</b>	<b>Date of Release &amp; Report : 2018-09-24</b>	<b>Expiry Date : 2023-09</b>

<i>Chloramphenicol C 30 mcg</i>	-	-	-	-	21-27 mm	26mm
<i>Ciprofloxacin CIP 5mcg</i>	-	-	-	-	30-40 mm	38mm
<i>Gentamicin GEN 10 mcg</i>	-	-	-	-	19-26 mm	24mm
<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**

<i>Growth promoting</i>	76	luxuriant	64	84%	-	-
<i>Amoxycylav 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	29mm
<i>Erythromycin E 15 mcg</i>	-	-	-	-	22-30 mm	28mm
<i>Linezolid LZ 30 mcg</i>	-	-	-	-	25-32 mm	31mm
<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	31mm
<i>Cefoxitin CX 30 mcg</i>	-	-	-	-	23-29 mm	27mm

**Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853**

<i>Growth promoting</i>	83	luxuriant	71	85%	-	-
<i>Amikacin AK 30 mcg *</i>	-	-	-	-	18-26 mm	25mm
<i>Aztreonam AT 3mcg</i>	-	-	-	-	23-29 mm	27mm
<i>Cephotaxime CTX 30 mcg</i>	-	-	-	-	18-22 mm	21mm
<i>Ceftazidime CAZ 30 mcg</i>	-	-	-	-	22-29 mm	27mm
<i>Ciprofloxacin CIP 5mcg</i>	-	-	-	-	25-33 mm	31mm
<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	31mm
<i>Ticarcillin/Clavulanic acid TCC 75/10mcg</i>	-	-	-	-	20-28 mm	27mm
<i>Tobramycin TOB 10 mcg *</i>	-	-	-	-	19-25 mm	23mm

**Escherichia coli ATCC 35218**



**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**

<b>Material Code : M173</b>	<b>Material Name : Mueller Hinton Agar</b>	<b>Lot No : 0000357521</b>
<b>Report No.: 040000849057</b>	<b>Date of Release &amp; Report : 2018-09-24</b>	<b>Expiry Date : 2023-09</b>

<i>Growth promoting</i>	75	luxuriant	63	84%	-	-
<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	18mm
<i>Piperacillin PI 100 mcg</i>	-	-	-	-	12-18 mm	16mm
<i>Piperacillin/Tazobactam PIT 100/10 mcg</i>	-	-	-	-	24-30 mm	29mm
<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**

<i>Growth promoting</i>	69	luxuriant	58	84%	-	-
<i>Co-Trimoxazole COT 25 mcg #</i>	-	-	-	-	# 20 mm (Clear zone)	23mm
<i>Trimethoprim TR 5 mcg #</i>	-	-	-	-	# 20 mm	21mm
<i>Vancomycin VA 30 mcg</i>	-	-	-	-	# 17 mm	22mm

**Staphylococcus aureus ATCC 43300 (MRSA)**

<i>Growth promoting</i>	88	luxuriant	76	86%	-	-
<i>Oxacillin OX 1 mcg</i>	-	-	-	-	Very Hazy to No Zone	No zone

**Streptococcus pneumoniae ATCC 49619 (On Medium with 5% Sheep Blood)**

<i>Growth promoting</i>	80	luxuriant	69	86%	-	-
-------------------------	----	-----------	----	-----	---	---

**Neisseria gonorrhoeae ATCC 49226 (Incubated w/5% CO2)**

<i>Growth promoting</i>	71	luxuriant	63	88%	-	-
-------------------------	----	-----------	----	-----	---	---

**Haemophilus influenzae ATCC 49247 (On medium w/ Y.E.,NAD & Hematin)**

<i>Growth promoting</i>	84	luxuriant	72	85%	-	-
-------------------------	----	-----------	----	-----	---	---

- . 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 9001:2015, ISO 13485:2012 , 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**

<b>Material Code : M173</b>	<b>Material Name :</b> Mueller Hinton Agar	<b>Lot No : 0000357521</b>
<b>Report No.: 040000849057</b>	<b>Date of Release &amp; Report : 2018-09-24</b>	<b>Expiry Date : 2023-09</b>

. Information for BSE/TSE Risk: The material was subjected to pH  $\leq$  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.

**STATUS OF THE MATERIAL : APPROVED**

This is to certify that this lot passes and it confirms 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**

  
Sheetal Shevale

**Microbiologist/Sr.Executive  
Microbiologist**

  
Ujjwala M. Kokate

**Asst./Dy/QC Manager**

  
Dr. Santosh Kaul

**Dy/QA Manager**

24.09.2018

## ANEXO G. Certificado de Análisis de Cepa *Escherichia coli*



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

<b>Specifications</b> <b>Microorganism Name:</b> Escherichia coli <b>Catalog Number:</b> 0335 <b>Lot Number:</b> 335-530** <b>Reference Number:</b> ATCC® 25922™* <b>Passage from Reference:</b> 3	<b>Expiration Date:</b> 2023/7/31 <b>Release Information:</b> <b>Quality Control Technologist:</b> Kavitha Gobalan <b>Release Date:</b> 2021/9/3
---	---

Performance	
<b>Macroscopic Features:</b> 2 colony types, both are gray & beta hemolytic; one is circular to irregular, convex, slightly erose edge & smooth; other is larger, irregular, low convex, erose edge & rough <b>Microscopic Features:</b> Gram negative straight rod	<b>Medium:</b> SBAP  <b>Method:</b> Gram Stain (1)
<b>ID System:</b> MALDI-TOF (1) See attached ID System results document.	<b>Other Features/ Challenges: Results</b> (1) Oxidase (Kovacs): negative Beta-glucuronidase (E. coli Broth w/MUG): positive (1) Ampicillin (10 mcg - Disk Susceptibility): 15 - 22 mm (1) Gentamicin (10 mcg - Disk Susceptibility): 19 - 26 mm (1) SXT (1.25/23.75 mcg - Disk Susceptibility): 23 - 29 mm  <div style="text-align: right; margin-top: 20px;">                           Amanda Kuperus                          Director of Quality Control                          AUTHORIZED SIGNATURE                     </div>

\*\*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.

⚠ Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information.

Individual products are traceable to a recognized culture collection.



(\*) The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC. Microbiologics, Inc. is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures.

(†) These tests are accredited to ISO/IEC 17025.



## Bruker Daltonik MALDI Biotyper Classification Results



### Meaning of Score Values

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

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

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

Run Creation Date/Time: 2021-08-12T10:12:59.842 KG

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

Sample Name	Sample ID	Organism (best match)	Score Value
G6 (+++) (A)	335-530	Escherichia coli	2.42

Comments:

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

## ANEXO H. Certificado de Análisis de Ceba *Staphylococcus aureus*



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

<p><b>Specifications</b>  <b>Microorganism Name:</b> Staphylococcus aureus subsp. aureus  <b>Catalog Number:</b> 0360  <b>Lot Number:</b> 360-540**  <b>Reference Number:</b> ATCC® 25923™*  <b>Passage from Reference:</b> 3  <b>(7) Mean Assay Value (MAV):</b> 6.9E+02 CFU per pellet</p>	<p><b>Expiration Date:</b> 2023/5/31  <b>Release Information:</b>  <b>Quality Control Technologist:</b> Kavitha Gobalan  <b>Release Date:</b> 2021/6/14</p>
--	---

<b>Performance</b>	
<p><b>Macroscopic Features:</b>                  Medium to large, convex, entire edge, both white and pale white colonies, smooth, opaque, beta hemolytic  <b>Microscopic Features:</b>                  Gram positive cocci occurring singly, in pairs and in irregular clusters</p>	<p><b>Medium:</b>                  SBAP  <b>Method:</b>                  Gram Stain (1)</p>

**ID System:** MALDI-TOF (1)  
 See attached ID System results document.

Amanda Kuperus  
 Director of Quality Control  
 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.

⚠ Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information.

Individual products are traceable to a recognized culture collection.



(\*) The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC. Microbiologics, Inc. is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures.



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

(7) The Mean Assay Value (MAV) stated above may deviate from the end-user's MAV based on variables inherent to each laboratory environment, such as methods, media type, equipment, pipettes, and individual technician technique.

## Bruker Daltonik MALDI Biotyper Classification Results



### Meaning of Score Values

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

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

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

Run Creation Date/Time: 2021-06-10T14:33:39.137 KG

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

Sample Name	Sample ID	Organism (best match)	Score Value
A4 (+++) (A)	360-540	Staphylococcus aureus	2.45

Comments:

n/a
-----



## Statistical Analysis Certificate

Microorganism Name: Staphylococcus aureus subsp. aureus

Reference #: ATCC® 25923™\*

Catalog #: 0360

Lot #: 360-540\*\*

Expiration Date: 2023/5/31

(7) Mean Assay Value (MAV): 6.9E+02 CFU per pellet

Standard Deviation: 8.7E+01

Coefficient of Variation: 13%

99% Confidence Interval of 6.2E+02 to 7.5E+02 CFU

95% Confidence Interval of 6.4E+02 to 7.3E+02 CFU

Method used to determine Mean Assay Value: Spiral Plate Method

Medium Employed: TSA

Incubation Time and Temp: 24 hrs at 34-38 degrees C

A handwritten signature in black ink that reads "Amanda Kuperus".

Amanda Kuperus

Director of Quality Control

AUTHORIZED SIGNATURE

(7) The Mean Assay Value (MAV) stated above may deviate from the end-user's MAV based on variables inherent to each laboratory environment, such as methods, media type, equipment, pipettes, and individual technician technique.

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. The information included in this Statistical Analysis Certificate is strictly based on the product's lot number. A product lot number may be assigned to multiple packaging configurations. As a result, this certificate only lists the lot number and does not include a product description.

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

## ANEXO I. Evidencias fotográficas

### INFORME DE PROCESAMIENTO DE MUESTRA

Muestra:



**Figura 1.** Muestra de tipo semillas de *Carica papaya L.* (papaya)



**Figura 2.** Selección de la muestra



**Figura 3.** Lavado de la muestra





**Figura 4.** Extracción de semillas



**Figura 5.** Limpieza de semillas



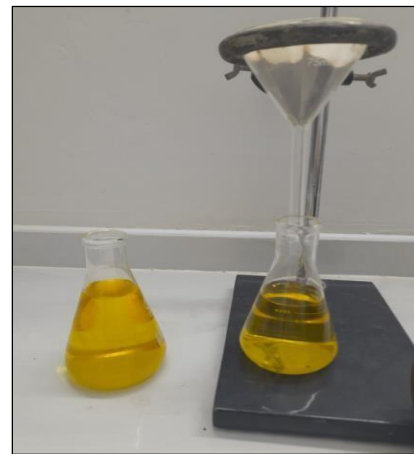
**Figura 6.** Procedimiento de secado de semillas



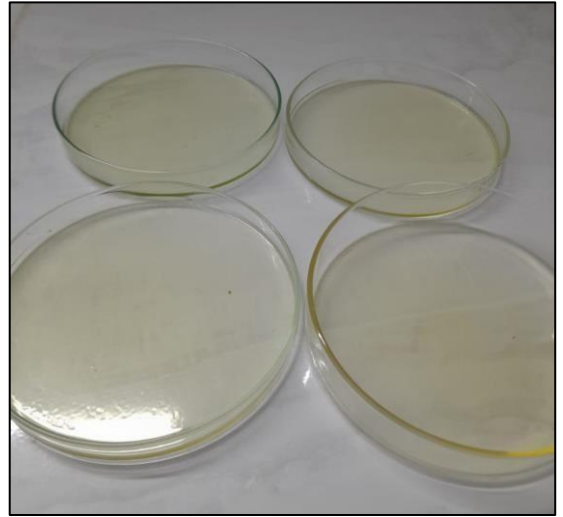
**Figura 7.** Procedimiento de molienda



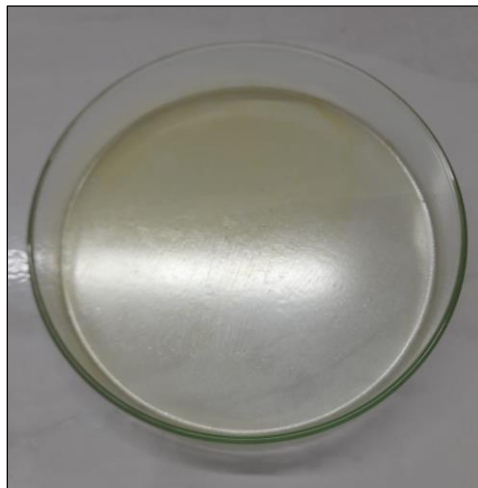
**Figura 8.** Preparación del macerado del extracto etanólico



**Figura 9.** Proceso de filtración

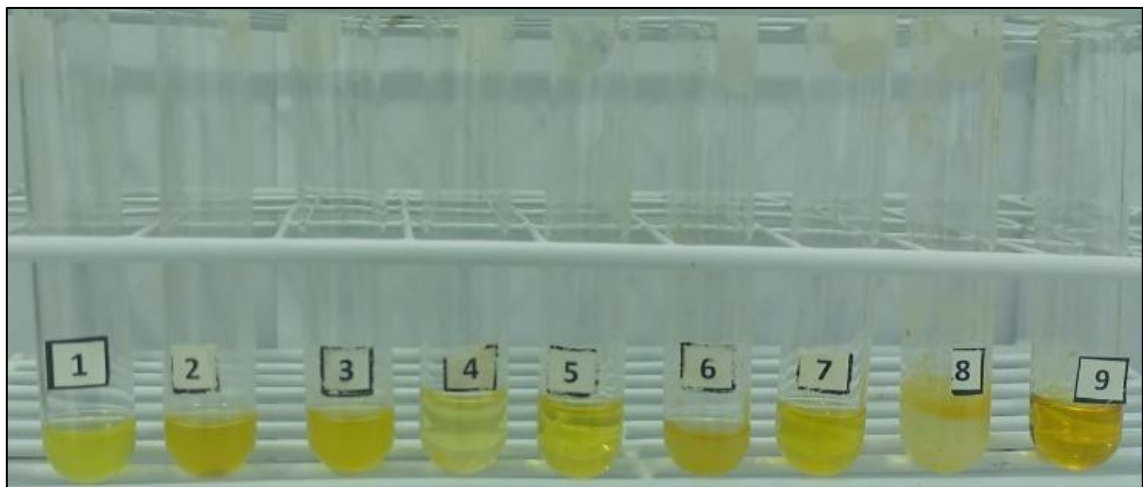


**Figura 10.** Proceso de vertido en placas



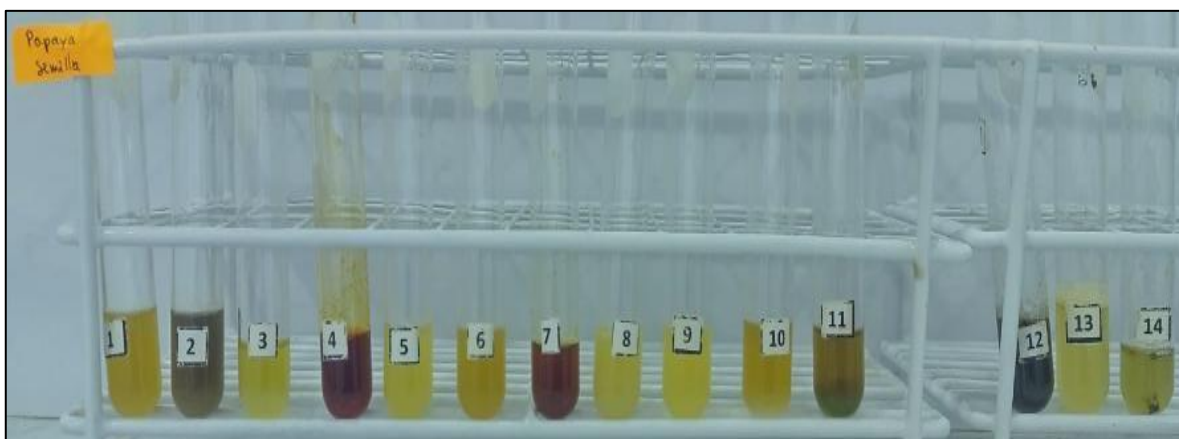
**Figura 11.** Obtención de extracto seco

## PROCEDIMIENTO DE ANALISIS DE SOLUBILIDAD



- 1. Procedimiento:** Para el análisis de solubilidad se procedió a añadir 1 g de extracto seco en cada tubo de ensayo seguido se adicionó 1 ml de cada solvente, luego se agito en un equipo vortex, finalmente, se observó la afinidad del extracto seco por cada solvente en estudio.

## PROCEDIMIENTO DE MARCHA FITOQUIMICA



- 2. Procedimiento:** Para el análisis de la marcha fitoquímica se procedió a añadir 1 ml de extracto etanólico de semillas de *Carica papaya L.* (PAPAYA) en cada tubo de ensayo seguido se adicionó 1 ml de cada reactivo, finalmente, se evidenció los metabolitos secundarios por medio de coloración y precipitación.

## INFORME ENSAYO MICROBIOLÓGICO



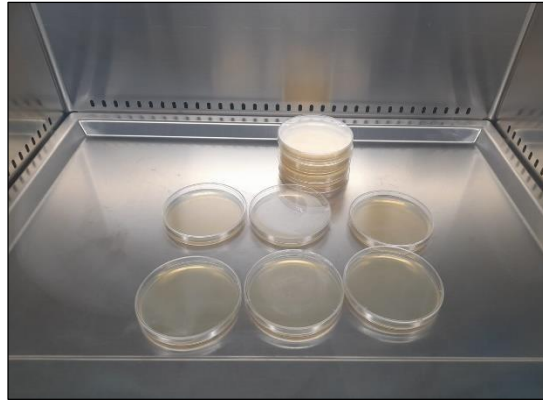
**Figura 12.** Pesando del Agar



**Figura 13.** Autoclave para el uso en la prueba microbiológica



**Figura 14.** Agar Mueller



**Figura 15.** Placas preparadas



**Figura 16.** Cepa biológica de tipo: *E. Coli* ATCC 25922



**Figura 17.** Cepa biológica de tipo: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923



**Figura 18.** Comparación de turbidez mediante reactivo de Mc. Farland



**Figura 19.** Rotulado de placas

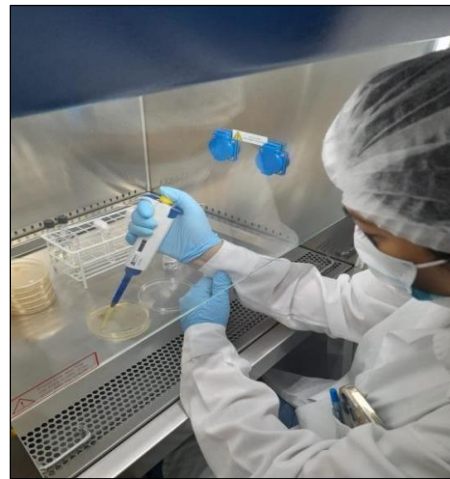


**Figura 20.** Sembrado de la cepa biológica en placas

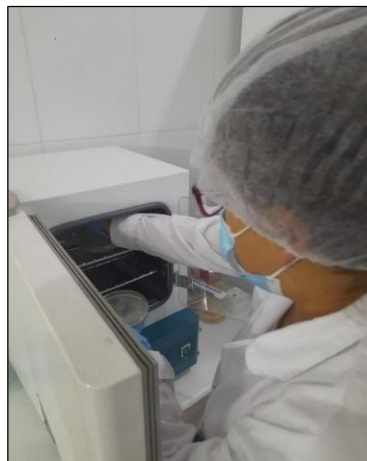




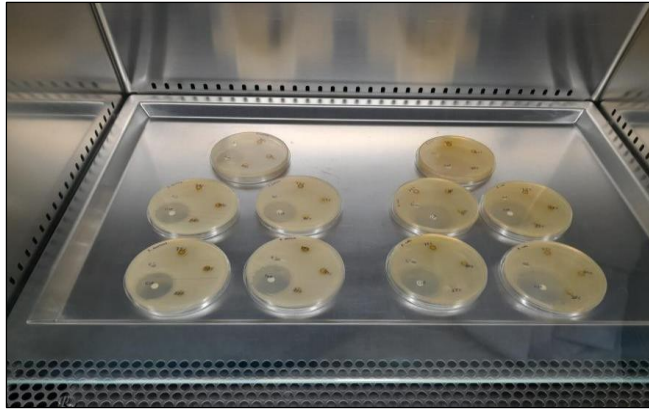
**Figura 21.** Realizando pozos en agar con ayuda de un sacabocado



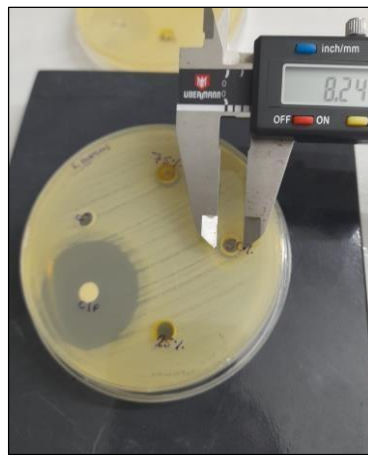
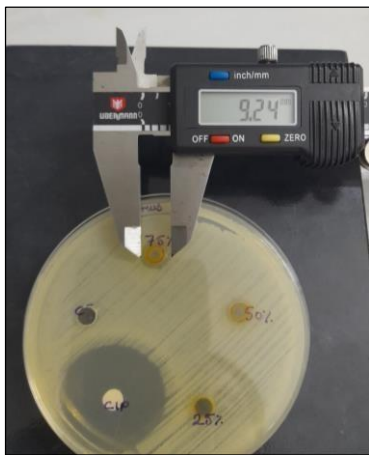
**Figura 22.** Adición de la sustancia experimental en la placa Petri



**Figura 23.** Incubación



**Figura 24.** Placas Petri con halos de inhibición



**Figura 25.** Lectura de resultados

## ANEXO J. Porcentaje de rendimiento

### Determinación del porcentaje de rendimiento

Tenemos la cantidad de producto obtenido en la extracción química.

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

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

Pf = peso final (extracto seco)

Pi = peso inicial (muestra molida)

Fuente: Efecto de los extractos secos clorofórmico y de diclorometano de *Tropaeolum tuberosum* (Ruiz & Pavón) mashua sobre los parámetros seminales y toxicidad aguda <http://www.scielo.org.co/pdf/rccqf/v48n1/0034-7418-rccqf-48-01-94.pdf>

### Extracción por maceración

$$\%E = \frac{5.20 \text{ g}}{149.1 \text{ g}} \times 100 = 3.49\%$$

Pf= 5.20 gr extracto seco obtenido

Pi = 149.1 gr. muestra molida