



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

**ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE  
CORTEZA DE *Ficus citrifolia* Mill. FRENTE A CEPAS DE *Escherichia coli* ATCC  
8739 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027**

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

**AUTORES:**

**Bach. ÑAÑEZ CHAMPI, JOBELITH TANIA**

**Bach. VIVAS OSORIO, ELYZ KATHERINNE POOLET**

**ASESOR:**

**Mg.Sc. BRAVO ARAUJO, GLORIA TULA**

**LIMA – PERÚ**

**2021**

## **DEDICATORIA**

A Jehová Dios, por darme fuerzas, siempre guiarme y cuidarme en estos momentos tan difíciles.

A mis padres, Grimaldo y Martina, por su apoyo incondicional para el logro de mis objetivos, siempre me incentivaron al progreso y el cumplimiento de mis metas a pesar de los obstáculos.

A mis hermanos y a mi querido Ángel, que siempre me motiva a ser mejor, acompañándome y confiando en mí.

**BACH. ÑAÑEZ CHAMPI, JOBELITH TANIA**

A Dios por ser mi guía, mi fuerza y bendecir cada uno de mis proyectos.

A mis padres, Ricardo y Patricia, por su apoyo, paciencia y amor incondicional, en cada momento de mi vida. Gracias por confiar siempre en mí y acompañarme en cada uno de mis sueños.

A mis hermanos, Piero y Fabricio, por ser uno de los motivos para seguir creciendo; por sus palabras de ánimo y ternura.

A toda mi familia por apoyarme a construir mis sueños.

**BACH. VIVAS OSORIO, ELYZ KATHERINNE POOLET**

## **AGRADECIMIENTO**

A Dios nuestro señor, por darnos salud y fortaleza. Por encaminar nuestros pasos por el camino del bien en todo este proceso de formación profesional, por ayudarnos a superar los retos de cada día.

A la Universidad María Auxiliadora, Facultad de Ciencias de la salud por su gran formación académica y profesional.

A nuestra asesora, que ha contribuido en nuestra investigación, por su tiempo y dedicación, asesoramiento, consejos, orientación y apoyo con el cual fue posible el desarrollo de esta tesis.

## Índice General

	<b>Páginas</b>
<b>Resumen</b>	viii
<b>Abstract</b>	ix
<b>I. INTRODUCCIÓN</b>	1
<b>II. MATERIALES Y MÉTODOS</b>	14
2.1 Enfoque y diseño de la investigación	14
2.2 Población, muestra y muestreo	14
2.3 Variables de investigación	15
2.4 Técnica e instrumentos de recolección de datos	16
2.5 Proceso de recolección de datos	16
2.6 Métodos de análisis estadístico	23
<b>III. RESULTADOS</b>	24
<b>IV. DISCUSIÓN</b>	41
4.1 Discusión de resultados	41
4.2 Conclusiones	45
4.3 Recomendaciones	45
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	46
<b>ANEXOS</b>	53

## Índice de Tablas

Tabla 1. Enfrentamiento Microbiológico	20
Tabla 2. Prueba de solubilidad del extracto hidroalcohólico de corteza de <i>Ficus citrifolia</i> Mill.	24
Tabla 3. Screening fitoquímico del extracto hidroalcohólico de corteza de <i>Ficus citrifolia</i> Mill.	25
Tabla 4. Resultados promedio de las mediciones de los halos de inhibición (mm) del extracto hidroalcohólico de corteza de <i>Ficus citrifolia</i> Mill.	27
Tabla 5. Estadísticos descriptivos de la actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico de corteza de <i>Ficus citrifolia</i> Mill.	30
Tabla 6. Prueba de Normalidad de los halos de inhibición del extracto hidroalcohólico de corteza de <i>Ficus citrifolia</i> Mill., <i>Escherichia coli</i> ATCC 8739 y <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	33
Tabla 7. Prueba de Homogeneidad de varianzas del extracto hidroalcohólico de corteza de <i>Ficus citrifolia</i> Mill., <i>Escherichia coli</i> ATCC 8739 y <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	34
Tabla 8. Prueba de ANOVA de los halos obtenidos frente a la cepa de <i>E. coli</i> ATCC 8739 y <i>P. aeruginosa</i> ATCC 9027	34
Tabla 9. Comparaciones múltiples de los halos de inhibición de <i>E. coli</i> ATCC 8739 y <i>P. aeruginosa</i> ATCC 9027 – Prueba de HSD TUKEY	35
Tabla 10. Prueba de subconjuntos de Tukey para <i>E. coli</i> ATCC 8739	38
Tabla 11. Prueba de subconjuntos de Tukey para <i>P. aeruginosa</i> ATCC 9027	39

## Índice de Figuras

Figura 1. Efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de corteza de <i>Ficus citrifolia</i> Mill.	28
--	----

## Índice de Anexos

<b>Anexo A.</b> Operacionalización de las variables	54
<b>Anexo B.</b> Tabla de resultados	56
<b>Anexo C.</b> Instrumentos de recolección de datos	57
<b>Anexo D.</b> Constancia de identificación Taxonómica.	61
<b>Anexo E:</b> Certificado de placas petri	62
<b>Anexo F:</b> Certificado de <i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	63
<b>Anexo G:</b> Certificado de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	65
<b>Anexo H:</b> Evidencias fotográficas del trabajo en campo	67
<b>Anexo I:</b> Matriz de Consistencia	75

## RESUMEN

**Objetivo:** Evaluar la actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico de corteza de *Ficus citrifolia* Mill. al 20%, 40% y 60% frente a cepas de *Escherichia coli* ATCC 8739 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027.

**Métodos:** Se preparó un extracto hidroalcohólico con la corteza de *Ficus citrifolia* Mill., al cual se realizaron las pruebas de solubilidad y tamizaje fitoquímico para comprobar la presencia de metabolitos secundarios. Para el desarrollo de la evaluación microbiológica se utilizó el método de difusión en disco y la medición de los halos de inhibición para evaluar el efecto inhibitorio, trabajando el extracto hidroalcohólico de la corteza de *Ficus citrifolia* Mill. a concentraciones de 20%, 40% y 60% frente a cepas de *Escherichia coli* ATCC 8739 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, y se comparó con los antibióticos Amoxicilina y Azitromicina como control positivo.

**Resultado:** El extracto hidroalcohólico presentó actividad antibacteriana con diferentes grados de sensibilidad, a una concentración de 60%, la cepa de *Escherichia coli* ATCC 8739 es muy sensible con un diámetro de  $15.01 \pm 0.06471$  mm y la cepa de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 presenta una sensibilidad baja con un diámetro de  $10.59 \pm 0.12942$  mm.

**Conclusiones:** El extracto hidroalcohólico de corteza de *Ficus citrifolia* Mill. al 60% posee actividad antibacteriana frente a cepas *Escherichia coli* ATCC 8739 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027.

**Palabras claves:** *Ficus citrifolia* Mill., actividad antibacteriana, *Escherichia coli*, extracto hidroalcohólico, *Pseudomonas aeruginosa*.



## ABSTRACT

**Objective:** Was to evaluate the antibacterial activity of the hydroalcoholic extract of the bark of *Ficus citrifolia* Mill. at 20%, 40% and 60% Against strains of *Escherichia coli* ATCC 8739 and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027.

**Methods:** A hydroalcoholic extract was prepared with the bark of *Ficus citrifolia* Mill., To which the solubility tests and phytochemical screening were carried out to verify the presence of secondary metabolites. For the development of the microbiological evaluation, the disk diffusion method and the measurement of the inhibition halos were used to evaluate the inhibitory effect, working the hydroalcoholic extract of the bark of *Ficus citrifolia* Mill. At concentrations of 20%, 40% and 60% against strains of *Escherichia coli* ATCC 8739 and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, and comparing it with the antibiotics Amoxicillin and Azithromycin as positive control.

**Results:** The hydroalcoholic extract presented antibacterial activity with different degrees of sensitivity, at a concentration of 60%, the *Escherichia coli* strain ATCC 8739 is very sensitive with a diameter of  $15.01 \pm 0.06471$  mm and the *Pseudomonas aeruginosa* strain ATCC 9027 presents a low sensitivity with a diameter of  $10.59 \pm 0.12942$  mm.

**Conclusions:** The hydroalcoholic extract of *Ficus citrifolia* Mill. Bark at 60% has antibacterial activity against *Escherichia coli* ATCC 8739 and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 strains.

**Keywords:** *Ficus citrifolia* Mill., antibacterial activity, *Escherichia coli*, hydroalcoholic extract, *Pseudomonas aeruginosa*.

## I. INTRODUCCIÓN

Los antibióticos, desde su descubrimiento en los años 40, son los medicamentos utilizados para prevenir y tratar las infecciones bacterianas; lo que permitió en aquella época, disminuir notablemente la morbilidad y mortalidad de muchas enfermedades infecciosas, dando una esperanza equivocada de que estas enfermedades desaparecerían. Sin embargo, poco después del descubrimiento empezaron a aparecer los reportes de resistencia a dichos fármacos<sup>1</sup>, este fenómeno ha progresado rápidamente desde la aparición de los primeros antibióticos, que ahora se habla de bacterias multidrogoresistentes (MDR; se refiere a las bacterias que presentan resistencia a 2 o más antibióticos), las extremadamente resistentes (XDR; son bacterias que presentan resistencia a 3 o más antibióticos), y las bacterias panresistentes (bacterias resistentes a prácticamente todos los antibióticos comunes) es decir son intratables, incluso en combinación de terapias<sup>2</sup>, otro término que también expresa la magnitud de la resistencia bacteriana existente es de las “superbacterias”, se refiere al grupo de bacterias altamente resistentes a múltiples familias de fármacos<sup>3</sup>. La ocurrencia de este fenómeno de encontrar bacterias MDR se ha convertido en algo frecuente, sobre todo en las unidades de cuidados intensivos y últimamente también se ha encontrado en el ambiente<sup>1,2</sup>.

Actualmente, se considera a la resistencia antimicrobiana como uno de los principales problemas de salud pública, esto es a causa de que el tratamiento para las infecciones causadas por este grupo de microorganismos cada vez se ve más limitado, llegando a fallar muchos de estos tratamientos, esto trae como consecuencia un aumento en la mortalidad, prolongación de la hospitalización y altos costos hospitalarios<sup>3,4</sup>. Para poder sobrellevar este problema se han implementado estrategias, las cuales no han sido efectivas, ya que los porcentajes de resistencia continúan incrementándose; y se tiene información que el número de nuevos antibióticos aprobados en las últimas décadas ha disminuido notablemente, e incluso alguno de los nuevos fármacos con una aparente buena actividad antibacteriana fueron retirados del mercado por efectos adversos serios, algunos potencialmente letales<sup>1</sup>.

La problemática de la resistencia bacteriana, no sólo se debe a las características naturales de las bacterias para adaptarse a las condiciones encontradas y sobrevivir, sino muchas de las causas son debido a las malas prácticas del ser humano debido al uso exagerado de antibióticos, tanto por personal de salud como de los pacientes o personas que no pertenecen a este sector<sup>2</sup>. Se ha reportado que el uso desmesurado de antibióticos, es muy común en la práctica clínica, esto es debido a las prescripciones innecesarias de antibióticos, por ejemplo, para el tratamiento de infecciones en las vías respiratorias (que equivalen del 30% al 50% de prescripciones), se recetan antibióticos cuando la gran mayoría de estas infecciones no son causadas por bacterias, sino por agentes virales<sup>1</sup>. Otro factor que contribuye a la resistencia bacteriana es la mala administración de estos fármacos ya que no se tiene en cuenta una adecuada dosificación, ni el tiempo de administración. Además, es importante considerar que, en la práctica empírica para la determinación del microorganismo causante de la infección, en la mayoría de los casos no se realiza estudios por cada paciente. Otro punto es el abandono del tratamiento por parte del paciente por presentar mejoría o disminución de los síntomas, y la automedicación ante una recaída<sup>1,3</sup>.

Otro aspecto que favorece a esta problemática, es la venta de antibióticos sin receta médica, lo que hace que el acceso a estos medicamentos sea más fácil, siendo estos los fármacos más vendidos y utilizados, inclusive en infecciones de origen viral, en las que el fármaco no va a tener efecto alguno. Esto generalmente se presenta en la población con escasos recursos económicos, las cuales prefieren ir a una farmacia en vez de una consulta médica, debido al difícil acceso al sistema de salud<sup>3</sup>.

La utilización de antibióticos también se ve en el área alimentaria, agrícola y veterinaria, favoreciendo a esta problemática. En estos casos el uso de antibióticos es más de cuatro veces superior, en comparación con su uso en medicina<sup>3</sup>. Estos fármacos se utilizan para favorecer el desarrollo de animales para consumo humano, así como también asegurar que los productos obtenidos a partir de estos, tengan una mayor producción y, por último, también son muy utilizados para prevenir infecciones bacterianas en estos animales<sup>3,5</sup>. Es así como estos fármacos

ingresan a la cadena alimentaria, exponiéndonos a pequeñas concentraciones de antibióticos desde temprana edad, las bacterias que sobreviven van formando poblaciones resistentes que podrían ocasionar una infección de difícil tratamiento en el tiempo<sup>5</sup>.

Un estudio en Perú por Carbajal y colaboradores, puso en evidencia la presencia de cepas de *Escherichia coli* resistentes en pollos, un 91% de las cepas fue resistente a la ampicilina y un 80% a las cefalosporinas, se realizó la prueba del doble disco, con la cual se confirmó la presencia en un 63% de Betalactamasas de Espectro Extendido (BLEE), estas cepas fueron obtenidas de las bolsas de Fabricio, esta resistencia se debe a que el personal productor de este sector, emplea como estimulador de crecimiento a los antibióticos, manteniendo el tránsito intestinal de los pollos libres de bacterias patógenas y así no se afecte su desarrollo<sup>6</sup>.

Últimamente, las fuentes ambientales han tenido mayor atención, considerándolos como medios que favorecen la resistencia a antibióticos, entre ellos se ha identificado las aguas residuales de las plantas de producción de fármacos, centros hospitalarios, municipios y la agricultura, ya que liberan antibióticos al medio ambiente en sus efluentes<sup>2</sup>.

Sumado a todo lo mencionado, la falta de innovación existente de la industria farmacéutica, ha favorecido aún más a la complejidad de esta problemática, ya que el desarrollo de nuevos antibióticos no es visto como algo atractivo para este sector. Esto se debe en parte a las barreras regulatorias y burocráticas ligadas con la ejecución de ensayos clínicos, también porque se han centrado en buscar fármacos para el tratamiento de enfermedades crónicas, siendo el desarrollo de estos medicamentos no tan costoso y su uso es por largos periodos de tiempo, en comparación con los antibióticos, lo que generaría un mayor consumo y en consecuencia mayores ganancias<sup>3</sup>.

La capacidad de las bacterias de evadir la acción antibacteriana es inagotable, a su vez la posibilidad de que surjan mutaciones o nuevos mecanismos de

transferencia de resistencia es cada vez mayor, los mecanismos más conocidos incluyen la inactivación del antibiótico por enzimas, entre estas tenemos las betalactamasas, carbapenemasas, etc., otro mecanismo son las modificaciones bacterianas que impiden la llegada del antibiótico al punto diana y por último la alteración por parte de la bacteria de su punto diana, impidiendo o dificultando la acción del antibiótico<sup>7</sup>.

En la última década se ha evidenciado el aumento de la incidencia de infecciones causadas por bacterias Gram negativas resistentes a múltiples fármacos, incluyendo enterobacterias MDR, *Pseudomonas aeruginosa* MDR y *Acinetobacter baumannii* MDR. Estos microorganismos generalmente están implicados en infecciones graves, por lo que actualmente suponen un gran problema de salud pública mundial<sup>8</sup>.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) publicó en el 2017 su primera lista de "patógenos prioritarios" resistentes a los antibióticos, donde se indican las 12 familias de bacterias más peligrosas para la salud humana, se incluye en esta lista las cepas de *Pseudomonas aeruginosa* y Enterobacterias con resistencia a antibióticos carbapenémicos, además también productoras de BLEE para el caso de las Enterobacterias. El objetivo de esta lista fue de guiar y promover la investigación y desarrollo de nuevos antibióticos, como parte de las actividades de la OMS para combatir el creciente problema mundial de la resistencia a los antimicrobianos<sup>9</sup>.

Debido a lo mencionado líneas arriba, se necesita una nueva fuente para la obtención de antibióticos. En respuesta a ello, las plantas son una buena alternativa que actualmente sigue siendo utilizada para la obtención de nuevos fármacos.

Uno de los problemas más comunes es que existen plantas medicinales que tienen una actividad antimicrobiana conocida por la población, sin embargo; no han sido analizadas a fondo, para determinar cuáles son sus beneficios, pasando muchas veces desapercibidas<sup>10,11</sup>. Se han realizado diversos estudios de plantas evaluando la actividad antibacteriana frente a diversas cepas, encontrándose compuestos

antimicrobianos, por ejemplo, el timol y el carvacrol son los componentes antimicrobianos de mayor importancia presentes el aceite esencial del orégano, estos compuestos desintegran la membrana externa de las bacterias Gram negativas<sup>12</sup>.

Otra investigación evaluó la actividad antioxidante y antimicrobiana de los extractos metanólicos de diez especies de plantas del género *Solanum*, utilizando modelos in vitro se determinó la actividad antioxidante, el contenido de fenoles y flavonoides totales. Los extractos de dos especies (*S. mammosum* y *S. barbeyanum*) presentaron actividad antimicrobiana frente a *Escherichia coli*<sup>13</sup>. También se han encontrado actividad antibacteriana en el género *Asteraceae*, siendo los principales componentes de las hojas de *Libanothamnus neriifolius*, el  $\beta$ -felandreno,  $\alpha$ -felandreno,  $\alpha$ -pineno y  $\alpha$ -tujeno, los cuales presentan actividad antibacteriana<sup>14</sup>.

La especie vegetal *Ficus citrifolia* Mill. presenta varias actividades terapéuticas, siendo utilizada en la cultura tradicional como hepatoprotectora, antiinflamatorio, antibacteriano, desintoxicante de la sangre, entre otros, lo que le ha permitido que tenga una relevancia vigente<sup>15</sup>.

Esta problemática es propicia para demostrar la capacidad antibacteriana del extracto hidroalcohólico de corteza de *Ficus citrifolia* Mill. hacia cepas de *Escherichia coli* ATCC 8739 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, para ello formulamos la siguiente pregunta:

- ¿El extracto hidroalcohólico de corteza de *Ficus citrifolia* Mill. al 20%, 40% y 60% presentará actividad antibacteriana frente a cepas de *Escherichia coli* ATCC 8739 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027?

Asimismo, se generan las siguientes sub preguntas:

- ¿Qué tipo de metabolitos secundarios con actividad antibacteriana poseerá el extracto hidroalcohólico de corteza de *Ficus citrifolia* Mill.?

- ¿A qué concentración del extracto hidroalcohólico de corteza de *Ficus citrifolia* Mill. presentará mayor efecto inhibitorio frente a cepas de *Escherichia coli* ATCC 8739 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027?
- ¿Cuál será la susceptibilidad antibacteriana de las cepas de *Escherichia coli* ATCC 8739 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 frente al extracto hidroalcohólico de corteza de *Ficus citrifolia* Mill. al 20%, 40% y 60% comparados con una Penicilina y un Macrólido?

El higerón pertenece a la familia Moraceae, género *Ficus* y especie *citrifolia* Mill., es un Árbol hemiepifítico, estrangulador o rupícola, de 4-20 metros<sup>16</sup>.

Esta planta presenta una gran cantidad de especies distribuidas en diversos lugares que presentan un clima tropical húmedo, se presume la existencia de más de 1000 especies en el mundo y más de 150 especies sólo en América del Sur<sup>17</sup>. En cuanto a su hábitat está ampliamente distribuida en América del norte desde Florida en los Estados Unidos, México llegando hasta las Guayanas en Centroamérica, y desde Colombia hacia la zona norte de Argentina en América del sur, los lugares en que frecuentemente se encuentran son los bosques de montaña secos de hasta 2200 a 2400 msnm de altitud y en las tierras bajas húmedas<sup>18,19</sup>.

Según De Mendoza LR. la especie *Ficus citrifolia* Mill. se encuentra sobre afloramiento rocoso o suelo arenoso y habita preferentemente al borde de los ríos<sup>20</sup>. En el Perú esta especie abunda en los bosques de la Amazonía, principalmente en las regiones de Ucayali<sup>21</sup>.

El nombre varía de acuerdo a su localización región o país, por ejemplo, en Ecuador se le denomina higerón, higereta, matapalo. En Brasil es conocido con los nombres de figueira y gameleira negra, mientras que, en Puerto Rico, esta especie es conocida como jagüey blanco. Así mismo, en la Florida (Estados Unidos) se le denomina higuera de hojas cortas. En México tiene varios nombres como podemos citar amate prieto, camichin, chalata, matapalo, tescalamill<sup>22</sup>. En el Perú no existe un nombre común específico para esta especie, sin embargo; el

género *Ficus* (Moraceae) está asociado a nombres vulgares como ojé, renaco, matapalo y renaquillo<sup>21</sup>.

Respecto a las formas y usos del género *Ficus*, García KT y Noriega PF en el 2015, en su estudio afirman que entre las aplicaciones medicinales de *Ficus citrifolia* Mill., se encuentra el uso del látex para curar heridas e infecciones, asimismo, la corteza de esta especie vegetal es empleada como cicatrizante en algunos pueblos nativos de Panamá<sup>19</sup>.

Los extractos vegetales, son un concentrado de sustancias, que incluyen principios activos y sustancias inertes presentes en la totalidad de la planta o por una o más de sus partes (hojas, raíz, fruto, etc.), esto se obtiene producto del tratamiento con solventes apropiados, como por ejemplo etanol, metanol, éter, agua, entre otros solventes<sup>23</sup>.

La capacidad o habilidad que presenta un compuesto para eliminar o inhibir el aumento de una población bacteriana, se define como actividad antimicrobiana, este efecto o atributo es medible y se puede expresar cuantitativamente haciendo pruebas in vitro, por ejemplo, los halos de inhibición, se producen al enfrentar a un determinado microorganismo frente a un compuesto en un medio de cultivo adecuado, la capacidad inhibitoria es directamente proporcional al diámetro del halo, este método microbiológico es muy utilizado, además una vez determinado un compuesto con actividad antimicrobiana debe hallarse la potencia en valores cuantitativos y también realizar el comportamiento de dicho compuesto en el tiempo (estudios de estabilidad), estos controles asegurarán la calidad del compuesto hallado<sup>24</sup>.

El uso de partes de plantas para obtener beneficios terapéuticos es muy frecuente, iniciando esto como una actividad costumbrista pero poco a poco han sido los estudios científicos que han respaldado sus efectos terapéuticos. Una de estas aplicaciones terapéuticas de plantas, es su actividad antibacteriana. Los resultados obtenidos de los diversos estudios realizado a plantas que tiene alta actividad terapéutica servirían de apoyo médico-social a varias comunidades que carecen de



recursos, esto también debería ser de interés para la industria farmacéutica, utilizando los conocimientos obtenidos para su producción en mayor cantidad<sup>25</sup>.

La emergencia de la resistencia bacteriana ha hecho que surja el interés en encontrar nuevos fármacos con capacidad antibacteriana, como evidencia de ello en los últimos años las publicaciones relacionadas con estudio de plantas u otras fuentes naturales que presenten dicha actividad, ha aumentado marcadamente, centrandose el estudio en la obtención de moléculas bioactivas a partir de productos naturales <sup>24</sup>.

Para evaluar la capacidad antibacteriana, existen métodos bien definidos, clasificados en tres grupos principales: Difusión en placa, dilución y bioautografía, también existe un cuarto método, conductimétrica, este detecta la presencia de microorganismos por el cambio en la conductividad eléctrica o por la resistencia de corriente eléctrica en un medio de cultivo. Generalmente se utiliza el método de difusión para realizar el estudio de compuestos polares, este método puede ser en papel o en pozo, y para el estudio de compuestos polares y no polares, el método de dilución<sup>24</sup>.

El método de difusión en agar, tiene la ventaja de que los resultados obtenidos son altamente reproducibles, este método es también conocido como Kirby-Bauer, ya que fue descrito originalmente por Bauer et al., la difusión en disco o en pozo ha sido estandarizado y en la actualidad es recomendado por el Subcomité de Ensayos de Susceptibilidad de NCCLS de Estados Unidos. El método se fundamenta en establecer de forma cuantitativa el efecto de un conjunto de compuestos, ensayados de forma individual, sobre diferentes bacterias que han sido aisladas de procesos infecciosos, existe una relación directamente proporcional entre la concentración del compuesto en estudio capaz de inhibir una cepa bacteriana y el halo formado por la inhibición de crecimiento en la superficie del medio de cultivo adecuado, para ello se siembra previamente a la bacteria de forma homogénea sobre el medio de cultivo contenido en una placa, después del cual se colocan discos de papel filtro de 6 mm de diámetro, o también haciendo un pozo dentro del cual se colocará una cantidad conocida de un compuesto<sup>24</sup>.

*Escherichia coli* es una bacteria anaerobia facultativa y de forma bacilar, frente a coloración Gram, corresponde a la Gram negativa, pertenece al grupo Enterobacteriaceae, tribu Escherichia. Esta bacteria se considera como parte de la flora normal, ya que coloniza el intestino del ser humano en pocas horas después del nacimiento, sin embargo; hay cepas que llegan a ser patógenas, causando diferentes cuadros clínicos, entre los más comunes son diarrea e infecciones urinarias<sup>26</sup>.

Marcos y colaboradores identificaron en cepas aisladas de establecimientos de salud, en la región de la sierra del Perú, con resistencia a los antibióticos, el 28,6 % de cepas aisladas eran productoras de BLEE<sup>27</sup>.

La multiresistencia en enterobacterias es relacionada con la presencia de betalactamasas, sobre todo con las BLEE, las cefamicinasas (enzimas de clase C) plasmídicas y las carbapenemasas<sup>27,28</sup>. Un estudio reciente de vigilancia, en 11 países de América Latina, incluyendo Perú, evidenció elevadas tasas de prevalencia total de *Escherichia coli* y de *Klebsiella pneumoniae* positivas para BLEE, Gram negativos resistentes a carbapenemasas, Enterococos con resistencia a vancomicina (ERV), y *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM) con presencia para Perú del 54%, 70%, 0%, 16%, y 79%, respectivamente<sup>2</sup>, en otro reporte se observó la resistencia de *Escherichia coli* en heces de niños saludables en Bolivia y Perú mostrando la presencia de genes causantes de la actividad de las BLEE, brindando información de un indicio temprano de la emergencia de BLEE en estos países<sup>2</sup>.

*Pseudomonas aeruginosa* es un patógeno ubicuo, oportunista y bastante persistente en el medio ambiente, su capacidad de sobrevivir a condiciones ambientales adversas, así como también los mecanismos de patogenicidad natural que posee, han hecho de esta bacteria el principal microorganismo relacionado con las infecciones nosocomiales<sup>28</sup>. Se estima que es causante del 10 al 15% aproximadamente, de las infecciones intrahospitalarias a nivel mundial, se le considera la quinta causa más frecuente en las infecciones a nivel mundial, la segunda causa de neumonía intrahospitalaria, la tercera causa de infecciones

urinarias, el cuarto de infecciones de sitio quirúrgico y el séptimo responsable de sepsis; atacando principalmente a pacientes con el sistema inmune deprimidos, tal es el caso de pacientes quemados o que presentan fibrosis quística<sup>29</sup>. *P. aeruginosa* presenta una resistencia natural a la mayoría de las penicilinas, las cefalosporinas de primera, segunda y muchas de las de tercera generación (salvo ceftazidima), las tetraciclinas, el cotrimoxazol y la rifampicina, esta elevada resistencia facilita su capacidad devastadora. El reporte de cepas con multiresistencia se ha relacionado con una mayor incidencia de bacteriemia secundaria y muerte<sup>8</sup>. En el 2016 el reporte anual europeo indicó que al menos 33 % de todas las cepas aisladas de *Pseudomonas aeruginosa* presentan mínimamente una resistencia a un antibiótico antipseudomonas, por ejemplo, a piperacilina / tazobactam, ceftazidima, un aminoglucósido, un carbapenem o a una fluoroquinolonas<sup>9</sup>.

Entre los antecedentes del trabajo de investigación se dispone de los siguientes:

**Bravo A y colaboradores (2015)**, su estudio tuvo como objetivo determinar los metabolitos secundarios y las clases de flavonoides que se encuentran en hojas de *Ficus benjamina* L. Se realizaron diversos ensayos que incluía la marcha fitoquímica, en la cual se pudo detectar la presencia de azúcares reductores, cumarinas, flavonoides, fenoles, quinonas, saponinas, grupos funcionales (como cetónicos y aldehídos), y anillos aromáticos. Se realizó el proceso de extracción y se determinó los tipos de flavonoides, empleando el método de cromatografía de capa fina; se usó como fase estacionaria una placa de aluminio con sílicagel 60 F254 y como fase móvil una mezcla de agua, metanol y acetonitrilo (4:1:5), se identificó la presencia de flavanonas y flavonas sin 5-OH libre y flavonoles con un 3-OH libre y con/sin 5-OH libre<sup>30</sup>.

**Abarca E y colaboradores (2018)**, su estudio tuvo como objetivo evaluar la capacidad antiulcerosa del extracto etanólico de las hojas de *Ficus carica* L. (higo) en ratas. En un análisis fitoquímico preliminar mostró presencia de alcaloides, flavonoides y grupos amina libre. Para evaluar la capacidad antiulcerosa, se obtuvo un extracto etanólico a partir de las hojas de esta planta, obteniendo un 83,01 % de

inhibición a una concentración de 800 mg/kg, frente a un 73,58% de inhibición para el patrón (ranitidina), el estudio concluyó que extracto etanólico tiene actividad antiulcerosa en ratas<sup>31</sup>.

**Fernández Flores J (2019)**, en su estudio titulado “Efecto cicatrizante del gel del extracto hidroalcohólico y fracciones (cloroformo, acetato de etilo y metanol) de corteza de *Ficus Citrifolia* Mill. en ratones albinos”; mediante las reacciones de coloración y/o precipitación se determinó presencia de metabolitos secundarios tales como: flavonoides, quinonas, alcaloides, taninos, triterpenos, lactonas  $\alpha$ - $\beta$  insaturadas, taninos no hidrolizables, dobles enlaces carbono – carbono, además de compuestos oxidables. El análisis cromatográfico determinó la presencia de triterpenos, flavonoides, taninos, quinonas y alcaloides. El ensayo pre-clínico, modelo de incisión, demostró efecto cicatrizante del gel de extracto hidroalcohólico y fracciones<sup>22</sup>.

**Sprenger L y colaboradores (2017)**, en su estudio evaluaron el efecto antibacteriano de los extractos de las hojas de *Polygala spectabilis* y *Ficus carica*. En esta evaluación se usaron las siguientes bacterias: *Clostridium perfringens*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*; y se empleó el método de dilución en caldo con concentraciones exponenciales ( $20 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$  a  $2560 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ ). El extracto de *Ficus carica* mostró una mejor eficacia contra todas las bacterias estudiadas; obteniendo una concentración bactericida mínima (CBM) para *Clostridium perfringens* de  $1280 \mu\text{g}/\text{mL}$ , *Escherichia coli* de  $2560 \mu\text{g}/\text{mL}$ , *Pseudomonas aeruginosa* de  $1280 \mu\text{g}/\text{mL}$  y *Staphylococcus aureus* de  $320 \mu\text{g}/\text{mL}$ . En cambio el extracto de *Polygala spectabilis* tuvo acción solamente contra *Staphylococcus aureus* (CBM de  $2560 \mu\text{g} / \text{mL}$ ). Concluyendo que el extracto de *Ficus carica* es una buena alternativa como antimicrobiano<sup>32</sup>.

**Expósito Paret E y colaboradores (2017)**, en su investigación evaluaron la acción antimicrobiana de los extractos hidroalcohólicos obtenidos de las hojas y frutos de *Ficus carica* L. Para ello determinaron la concentración mínima inhibitoria usando la técnica de macrodilución en caldo. Se usaron tres tipos de extractos puros (del fruto verde, fruto maduro y de las hojas) en los cuales si se comprobó crecimiento

microbiano, sin embargo; cuando se preparó una dilución 1:2 no hubo crecimiento bacteriano en ninguna de las muestras. Luego en la dilución 1:4 se demostró una sensibilidad con los extractos de fruto verde y fruto maduro para cepas de *P. aeruginosa* y *E. coli*. El extracto del fruto verde a la dilución 1:4 inhibió el desarrollo de *Staphylococcus aureus*, la dilución 1:8 a *Pseudomona aeruginosa* y ambas diluciones a *Candida albicans*. Por lo que se concluye que las partes estudiadas presentan efectividad antimicrobiana en algunos de sus componentes<sup>33</sup>.

**Valdez L y colaboradores (2017)**, en su investigación realizada en Ecuador, reportan el uso popular de los frutos de higuera (*Ficus citrifolia* Mill.), aplicado en forma de cataplasmas en abscesos dentales, favoreciendo la maduración y cicatrización de las heridas<sup>34</sup>.

El estudio es de gran relevancia ya que busca aportar mayor información científica sobre la especie *Ficus citrifolia* Mill. frente a la actividad antibacteriana, de lograr el objetivo planteado se obtendrá una fuente segura de medicamentos a partir de la planta para curar enfermedades humanas.

Por esta razón, la presente investigación tiene una justificación teórica, ya que permitirá validar científicamente el efecto antibacteriano y encontrar los tipos de metabolitos secundarios responsables del efecto terapéutico presentes en la especie vegetal *Ficus citrifolia* Mill. además, ayudará a dar un mejor uso de la especie vegetal y fomentar el desarrollo de otras investigaciones; de igual manera, la investigación tendrá una justificación social, ya que de comprobarse el efecto antibacteriano sería más accesible para los pueblos más alejados y de menos recursos, quienes la tendrían como una alternativa terapéutica frente a las enfermedades.

El objetivo general del presente estudio será evaluar la actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico de corteza de *Ficus citrifolia* Mill. al 20%, 40% y 60% frente a cepas de *Escherichia coli* ATCC 8739 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027.

Los objetivos secundarios serán:

- Determinar los tipos de metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de corteza de *Ficus citrifolia* Mill.
- Determinar a qué concentración del extracto hidroalcohólico de corteza de *Ficus citrifolia* Mill. presentará mayor efecto inhibitorio frente a cepas de *Escherichia coli* ATCC 8739 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027.
- Evaluar la susceptibilidad antibacteriana de las cepas de *Escherichia coli* ATCC 8739 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 frente al extracto hidroalcohólico de corteza de *Ficus citrifolia* Mill. al 20%, 40% y 60% comparados con una Penicilina y un Macrólido.

La hipótesis general del estudio será la siguiente:

- El extracto hidroalcohólico de corteza de *Ficus citrifolia* Mill. al 20%, 40% y 60% presenta actividad antibacteriana frente a cepas *Escherichia coli* ATCC 8739 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027.

Las hipótesis secundarias serán las siguientes:

- El extracto hidroalcohólico de corteza de *Ficus citrifolia* Mill. posee metabolitos secundarios con actividad antibacteriana.
- El extracto hidroalcohólico de la corteza de *Ficus citrifolia* Mill. posee efecto inhibitorio a mayor concentración frente a cepas *Escherichia coli* ATCC 8739 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027.
- La susceptibilidad antibacteriana de las cepas de *Escherichia coli* ATCC 8739 y de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 frente al extracto hidroalcohólico de la corteza de *Ficus citrifolia* Mill. al 20%, 40% y 60% presenta mejor porcentaje de inhibición en comparación con una Penicilina y un Macrólido.

## II. MATERIALES Y MÉTODOS

### 2.1. Enfoque y diseño de la investigación

**Enfoque:** Cuantitativo, porque se basa en tener una secuencia de procedimientos los cuales pueden probarse y medirse<sup>35</sup>. Ya que en la investigación luego de seguir una serie de procedimientos se podrán cuantificar los datos obtenidos y determinar la actividad antibacteriana que puede presentar el extracto hidroalcohólico de corteza de *Ficus citrifolia* Mill. frente a cepas de *Escherichia coli* ATCC 8739 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027.

**Experimental:** Ya que se presenta mediante la manipulación de una variable independiente, en nuestro caso el extracto hidroalcohólico de corteza de *Ficus citrifolia* Mill., en condiciones rigurosamente controladas con el fin de describir el modo o por qué causa se produce una situación o acontecimiento particular<sup>36</sup>, estableciendo una posible causa efecto con la variable dependiente (actividad antibacteriana frente a cepas de *Escherichia coli* ATCC 8739 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027).

**Transversal:** Porque se obtiene información del objeto de estudio (población o muestra) una única vez en un momento dado<sup>37</sup>.

**Explicativo:** Ya que se encarga de buscar el porqué de los hechos mediante la relación causa-efecto, en nuestro estudio se busca relacionar las diferentes concentraciones del extracto hidroalcohólico de corteza de *Ficus citrifolia* Mill. y la actividad antibacteriana resultante frente a cepas de *Escherichia coli* ATCC 8739 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027. Los estudios explicativos pueden ocuparse tanto de la determinación de las causas, como de los efectos<sup>35</sup>.

## 2.2. Población, muestra y muestreo

La población vegetal son las plantas de *Ficus citrifolia* Mill. que serán recolectadas de la localidad de Moyobamba Región San Martín, a unos 1500 msnm, en horas de la tarde (13:00 horas).

La muestra vegetal está constituida por 1 kg de corteza de *Ficus citrifolia* Mill.

Se consideran como criterios de exclusión a aquellas plantas que estén dañadas y/o maltratadas; se considera como criterio de inclusión a aquellas plantas que están en óptimas condiciones teniendo como base su morfología y caracteres organolépticos.

La población microbiológica, son los microorganismos bacterianos de cepas de *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*.

Las muestras microbiológicas son las cepas estandarizadas de *Escherichia coli* ATCC 8739 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027.

Se consideran como criterios de exclusión aquellos cultivos de *Escherichia coli* ATCC 8739 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 que hayan sido contaminadas con cualquier microorganismo.

El muestreo se realizará de manera aleatoria considerando los criterios de exclusión e inclusión antes mencionados.

## 2.3. Variables de investigación

**Variable independiente:** Extracto hidroalcohólico de corteza de *Ficus citrifolia* Mill.

Definición conceptual: Producto obtenido luego de la maceración de las partes vegetales en alcohol al 70% por un periodo de tiempo, en este caso 10 días, pasado este tiempo se lleva a una estufa a 40°C para su concentración, hasta que se elimine el solvente, guardándolo en un envase de vidrio color ámbar para su adecuada conservación y almacenamiento.



Definición operacional: Concentración del extracto hidroalcohólico de corteza de *Ficus citrifolia* Mill.

**Variable dependiente:** Actividad antibacteriana frente a cepas de *Escherichia coli* ATCC 8739 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027.

Definición conceptual: Capacidad de una sustancia para inhibir el crecimiento y propagación de las bacterias en estudio

Definición operacional: Sensibilidad bacteriana frente al extracto hidroalcohólico de la corteza de *Ficus citrifolia* Mill. obtenida por medición del diámetro de los halos de inhibición.

## **2.4. Técnica e instrumentos de recolección de datos**

Se usarán fichas de registro en donde se colocarán los datos obtenidos en la fase de determinación de actividad Microbiológica, prueba de solubilidad y marcha fitoquímica.

## **2.5. Procedimiento para recolección de datos**

### **A. Procedimiento para recolección del extracto vegetal**

#### **- Recolección de la Muestra vegetal**

La planta de corteza de *Ficus citrifolia* Mill. será recolectada de la localidad de Moyobamba, Región San Martín, a unos 1500 msnm, en horas de la tarde (13:00 horas). Tomándose en cuenta los criterios de inclusión y exclusión mencionados.

## - **Identificación de la muestra vegetal**

La muestra vegetal utilizada en la investigación fue identificada en el Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

## - **Obtención del extracto**

Una vez que la muestra en estudio este identificada, seleccionada y seca, se procedió a triturar la muestra, con ayuda de un mortero, luego de ello se colocó en un frasco ámbar con el solvente alcohol al 70%, durante 10 días.

Para concentrar el extracto se procedió a filtrar, luego la solución obtenida se colocó en otro recipiente y se llevó a la estufa a 40°C.

A partir de esta muestra se preparó concentraciones al 20 %, 40 % y 60 % del extracto hidroalcohólico de corteza de *Ficus citrifolia* Mill. y fueron conservadas en frascos de color ámbar estériles para su posterior uso en el Laboratorio de fitoquímica de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad María Auxiliadora.

## **B. Prueba de solubilidad**

Una vez obtenido el extracto de aspecto pastoso, se realizó la prueba de solubilidad, colocando 1 mL de cada solvente en un tubo de ensayo (cada solvente en un tubo), con una pequeña cantidad de muestra, se observó visualmente si era soluble. Se probaron con los siguientes solventes:

- Tubo 1. Cloroformo
- Tubo 2. Éter de petróleo
- Tubo 3. Etanol
- Tubo 4. Metanol
- Tubo 5. Agua destilada
- Tubo 6. n-Hexano

### C. Marcha fitoquímica

Se trabajó con los siguientes reactivos:

- **Reacción con Dragendorff**, se colocan en un tubo de ensayo 10 gotas de la muestra (solución extracto hidroalcohólico de corteza de *Ficus citrifolia* Mill.) se adicionan 5 gotas de HCl al 10% y por último 3 gotas de Dragendorff. Si se observa un precipitado color naranja la reacción es positiva para Alcaloides.
- **Reacción con Antrona**, se colocan en un tubo de ensayo 10 gotas de la muestra (solución extracto hidroalcohólico de corteza de *Ficus citrifolia* Mill.) y se añade 3 gotas de reactivo de Antrona por las paredes del tubo de ensayo. La reacción será positiva para azúcares si se observa una coloración azul-verdosa<sup>38</sup>.
- **Reacción con Fehling**, se colocan en un tubo de ensayo 10 gotas de la muestra (solución extracto hidroalcohólico de corteza de *Ficus citrifolia* Mill.) y se adiciona 3 gotas del reactivo Fehling A y Fehling B respectivamente; se calienta a baño María. Si la coloración resultante es de color Rojo Amarillo indicará la presencia de azúcares reductores.
- **Reacción de Tricloruro Férrico**, se colocan en un tubo de ensayo 10 gotas de la muestra (solución extracto hidroalcohólico de corteza de *Ficus citrifolia* Mill.) y 3 gotas de tricloruro férrico. Una coloración verde azul indicará la presencia de taninos no hidrolizables.
- **Reacción de Gelatina**, se colocan en un tubo de ensayo 10 gotas del extracto hidroalcohólico de corteza de *Ficus citrifolia* Mill. y 3 gotas de Gelatina, dando un precipitado denso de color blanco ante la presencia de taninos.

- **Reacción con Shinoda**, en 1 mL del extracto hidroalcohólico se agregó limaduras de magnesio y se añadió 3 gotas de HCl concentrado. Un color rosa o rojo indica presencia de flavonoides.  
El magnesio metálico al ser oxidado por el HCl concentrado da H<sub>2</sub> (eliminado en forma de gas); el MgCl<sub>2</sub>, forma complejos con los flavonoides dando coloraciones características<sup>38</sup>.
- **Reacción con Rosenheim**, se colocan en un tubo de ensayo 10 gotas del extracto hidroalcohólico de corteza de *Ficus citrifolia* Mill. y 3 gotas de reactivo Rosenheim. Se formará una coloración roja oscura ante la presencia de antocianinas.
- **Reacción de Ninhidrina**, se colocan en un tubo de ensayo 10 gotas de extracto hidroalcohólico de la corteza de *Ficus citrifolia* Mill. y 3 gotas de Ninhidrina, se calienta por 5 a 10 minutos, si se torna color violáceo indicará la presencia de aminoácidos libres.
- **Reacción con Molish**, en 1 mL del extracto hidroalcohólico se le añadió 1 mL de solución del reactivo A ( $\alpha$ -naftol + etanol al 5%) con 2 gotas de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado. La formación de anillo violeta indica presencia de azúcares<sup>38</sup>.

#### D. Enfrentamiento microbiológico

Para la siguiente investigación se emplearon 60 placas Petri con medio de cultivo agar Müller Hinton (para su preparación se cumplieron todas las recomendaciones indicadas por el fabricante); luego fueron sembradas con las cepas de *Escherichia coli* ATCC 8739 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, se incubó a temperatura de 37 °C por 48 horas para ser verificados y medidos con un vernier. Se registraron los resultados obtenidos y discutidos con los antecedentes con las concentraciones de nuestra investigación del extracto hidroalcohólico de corteza de *Ficus citrifolia* Mill.

**Tabla 1.** Enfrentamiento Microbiológico

Grupos	Sembrado bacteriano con <i>Escherichia coli</i> y <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Tratamiento	Recolección de datos	
			24 horas	48 horas
Grupo 1	✓	-	•	•
Grupo 2	✓	Extracto hidroalcohólico de corteza de <i>Ficus citrifolia</i> Mill. 20%	•	•
Grupo 3	✓	Extracto hidroalcohólico de corteza de <i>Ficus citrifolia</i> Mill. 40%	•	•
Grupo 4	✓	Extracto hidroalcohólico de corteza de <i>Ficus citrifolia</i> Mill. 60%	•	•
Grupo 5	✓	Control una Penicilina Amoxicilina 25 ug.	•	•
Grupo 6	✓	Control un Macrólido Azitromicina 15 ug.	•	•

- a) En el grupo 1 no se administró ningún tipo de fármaco y será nuestro blanco (se correrá en cada placa estudiada).
- b) Las cepas de *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa* serán sembradas en las placas del grupo 1 hasta el grupo 6.
- c) En los grupos 2,3,4 se colocarán discos del extracto hidroalcohólico de la corteza de *Ficus citrifolia* Mill. en diferentes concentraciones en este caso al 20%, 40% y 60%.

- d) El Grupo 5 y 6 se usarán los controles positivos elegidos, en este caso Amoxicilina y Azitromicina (antibióticos)
- e) La lectura de los halos se realizará a las 24 y 48 horas para su posterior discusión.

Para medir la actividad antimicrobiana se usará el método de disco difusión y la técnica llamada siembra en superficie.

#### - **Obtención de los microorganismos**

Se obtuvieron en el centro IBACLIN MEDICA, las cepas usadas en la investigación son estándar de *Escherichia coli* ATCC 8739 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 de la Marca MICROBIOLOGICS, las cuales han sido solo diseñadas para realizar estudios in vitro.

#### - **Preparación del medio de cultivo Mueller-Hinton**

El agar Mueller-Hinton se prepara con agua destilada siguiendo las indicaciones dadas por el fabricante.

En la temperatura indicada, verter aproximadamente 15 a 20 mL de medio de cultivo dentro de las placas Petri estériles del laboratorio Biologix dando un fondo uniforme de 4 mm de espesor aproximadamente, las placas tienen un diámetro de 100 mm. Se deja enfriar el medio de cultivo a temperatura ambiente, manteniéndola sobre una superficie nivelada. Considerar el pH de del medio de cultivo de agar Mueller-Hinton entre 7,2 - 7,4.

Realizar los controles de esterilidad del medio de cultivo Mueller-Hinton, incubando una o dos placas de cada lote autoclavado a 30°C – 35°C por 24 horas o más. Se considera importante si presenta crecimiento en estas placas, anotar los resultados y descartarlas<sup>39</sup>.

#### - **Discos de sensibilidad**

Los discos fueron preparados con papel filtro Watman N°10 de 6 mm de diámetro para luego ser esterilizados. Posteriormente se procedió a impregnarlos con las concentraciones al 20, 40 y 60 % del extracto hidroalcohólico de corteza de *Ficus citrifolia* Mill. respectivamente.

Los discos impregnados con el extracto se colocaron sobre la superficie del agar con la ayuda de una pinza estéril, esta nos permite ejercer una presión suave sobre cada disco, lo que nos permite asegurar un contacto completo con la superficie del agar. La distancia entre disco y disco debe de ser 25 mm uno del otro como mínimo. Una vez que los discos tuvieron contacto con la superficie del agar ya no pueden ser removidos ya que estos difunden rápidamente en la superficie<sup>39</sup>.

#### - **Preparación del inóculo**

Se prepara teniendo como patrón al tubo N° 0,5 de la escala de Mc Farland. Se toca con un asa de siembra la superficie de cada colonia de *Escherichia coli* ATCC 8739 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 y se transfiere a un tubo de ensayo que contiene de 3.5 a 5 mL de caldo Nutritivo.

Ajustar la turbidez de cada inóculo respectivo con caldo nutritivo teniendo en cuenta el patrón de la escala de Mc. Farland (tubo N° 0.5), esto se realiza comparando visualmente ambas suspensiones. Para una adecuada preparación se debe tener una luz adecuada y los tubos deben de ser observados contra un fondo blanco con líneas negras como contraste.

La suspensión preparada contendrá aproximadamente  $1 \text{ a } 2 \times 10^8$  UFC/mL<sup>39</sup>.

#### - **Sembrado de las cepas de *Escherichia coli* ATCC 8739 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027.**

Se realizó mediante el método de Kirby-Bauer. (Método disco-placa-cultivo). Este procedimiento se realizará para el sembrado de ambas cepas en estudio. En un tiempo no mayor a 15 minutos luego de haber obtenido el inóculo descrito líneas arriba proceder a coger la muestra con ayuda de un

hisopo estéril; sumergir y rotar ejerciendo presión sobre las paredes del tubo para quitar el exceso de muestra que tengamos en el hisopo.

Sembrar estriando con el hisopo en tres direcciones, una opuesta del otro, para asegurar que el inóculo se distribuya uniformemente.

Secar las placas sembradas a temperatura ambiente durante 3 a 5 minutos para que se absorba cualquier exceso de humedad superficial y proceder luego a la colocación de los discos<sup>39</sup>.

#### - **Medición de halos de Inhibición**

Se recomienda colocar las placas contra una superficie oscura bajo luz reflejada. En la medición de los discos se incluirá el diámetro del mismo (6 mm), y se realizará con la ayuda de un vernier, sin remover la tapa de la placa. Tener en cuenta que una medición de 6 mm es indicadora de que no existe inhibición.

Para la lectura de los halos sólo se debe tomar en cuenta el área que no muestra un crecimiento visible que puede ser detectado visualmente con facilidad, no se debe de incluir algún velo de crecimiento o colonias muy pequeñas que no son detectadas fácilmente. No obstante, las colonias que presenten mayor tamaño dentro de la zona clara deberán ser subcultivadas e identificadas. En ocasiones algunas cepas de *Proteus spp.* pueden presentar un velo de invasión o el llamado “swarming” dentro de las zonas de inhibición de algunos antibióticos. En estos casos no deben de ser considerados al momento de medir los halos de inhibición<sup>39</sup>.

### **2.6. Métodos de análisis estadístico**

Los datos obtenidos en esta investigación serán evaluados utilizando el programa estadístico Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) en la versión que se tenga disponible, en la cual se evaluarán los datos estadísticos como la media y el promedio de los datos obtenidos en cada grupo de estudio.



Además, se empleará ANOVA (ANalysis Of VAriance) que nos ayudará en la contrastación de la hipótesis.

### III. RESULTADOS

#### 3.1. Prueba de solubilidad

**Tabla 2.** Prueba de solubilidad del extracto hidroalcohólico de corteza de *Ficus citrifolia* Mill.

Solventes	Resultado
Cloroformo	-
Éter de petróleo	-
Etanol	+
Metanol	++
Agua destilada	+++
n-hexano	-

Elaboración propia

Leyenda:

- No soluble o insoluble (-)
- Poco soluble (+)
- Mediana o moderadamente soluble (++)
- Completamente soluble (+++)

En la tabla 2, se muestra la Prueba de solubilidad del extracto hidroalcohólico de la corteza de *Ficus citrifolia* Mill., para lo cual se utilizaron varios solventes con diferente polaridad. El resultado de mayor solubilidad (+++) corresponde al solvente universal que es el agua destilada (solvente polar), seguido del metanol (++) con mediana solubilidad y por último al etanol, donde se obtuvo que es poco soluble (+) e insoluble para cloroformo, n-hexano y éter de petróleo.

### 3.2. Marcha fitoquímica

**Tabla 3.** Screening fitoquímico del extracto hidroalcohólico de corteza de *Ficus citrifolia* Mill.

Metabolitos Secundarios	Reactivo de Identificación	Reacción Positiva	Resultado
Alcaloides	Mayer	Precipitado blanco lechoso	+
	Wagner	Precipitado marrón	+
	Dragendorff	Precipitado anaranjado	+++
	Scheibler	-	-
	Sonneschein	-	-
	Reineckato	-	-
Compuestos Fenólicos y Flavonoides	Shinoda	Coloración rojiza	+
	Cloruro férrico	-	-
	Gelatina al 1%	-	-
	Bortranger	-	-
Aminoácidos	Ninhidrina	-	-
Cumarinas	Hidróxido de Sodio al 1%	-	-
Antraquinonas	Reacción de Bortranger	-	-

Metabolitos Primarios	Reactivo de Identificación	Reacción Positiva	Resultado
Glúcidos	Fehling A y B	Coloración rojo ladrillo	+
Almidón	Lugol	Coloración azul intensa	+
Cetonas	2,4 DNPH	-	-

Fuente: Elaboración propia

Leyenda:

- (-) La coloración o precipitado no se evidencia
- (+) La coloración o precipitado se evidencia poco
- (++) La coloración o precipitado se evidencia moderadamente
- (+++) La coloración o precipitado se evidencia notablemente

En la tabla 3, se muestran los resultados de la Marcha fitoquímica del extracto hidroalcohólico de corteza de *Ficus citrifolia* Mill., la determinación se realizó mediante pruebas cualitativas de coloración y precipitación, dependiendo de los grupos químicos presentes en la muestra vegetal, con la finalidad de identificar los metabolitos primarios y secundarios con actividad antibacteriana frente a cepas de *Escherichia coli* ATCC 8739 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027.

Se evidencia la presencia de metabolitos secundarios tales como alcaloides, los cuales fueron identificados mediante los reactivos Dragendorff (+++) evidencia notable y la reacción ante los reactivos Mayer y Wagner (+) poca evidencia; seguida de otros metabolitos como los flavonoides (+). Para la identificación de metabolitos primarios se utilizaron los reactivos de Fehling A y B, obteniendo (+) poca evidencia, así mismo el reactivo Lugol para la identificación de almidón (+).

### 3.3. Determinación de la actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico de corteza de *Ficus citrifolia* Mill. frente a cepas de *Escherichia coli* ATCC 8739 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027

Para la determinación del efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de corteza de *Ficus citrifolia* Mill. frente a cepas de interés clínicos, se usaron concentraciones del extracto al 20%, 40% y 60%, controles positivos como Amoxicilina y Azitromicina, además de usar solución hidroalcohólica como blanco.

**Tabla 4.** Resultados promedio de las mediciones de los halos de inhibición (mm) del extracto hidroalcohólico de corteza de *Ficus citrifolia* Mill.

Cepa bacteriana	N°	Blanco	Con. 20 %	Con. 40 %	Con. 60 %	Amoxicilina	Azitromicina
<i>E. coli</i> ATCC 8739	1	6.06	7.40	10.53	14.98	18.35	19.97
	2	6.08	7.53	10.70	15.08	18.38	19.48
	3	6.05	7.73	10.58	15.08	18.84	19.78
	4	6.10	7.78	10.68	14.95	18.83	20.00
	5	6.11	7.48	10.63	14.95	18.37	19.53
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 9027	1	6.03	6.75	8.18	10.73	11.25	17.02
	2	6.08	7.13	8.63	10.48	11.09	16.82
	3	6.03	6.88	8.68	10.63	11.83	16.83
	4	6.08	6.86	8.28	10.68	11.44	17.09
	5	6.05	7.08	8.23	10.43	11.95	17.07

Controles positivos: Amoxicilina y Azitromicina

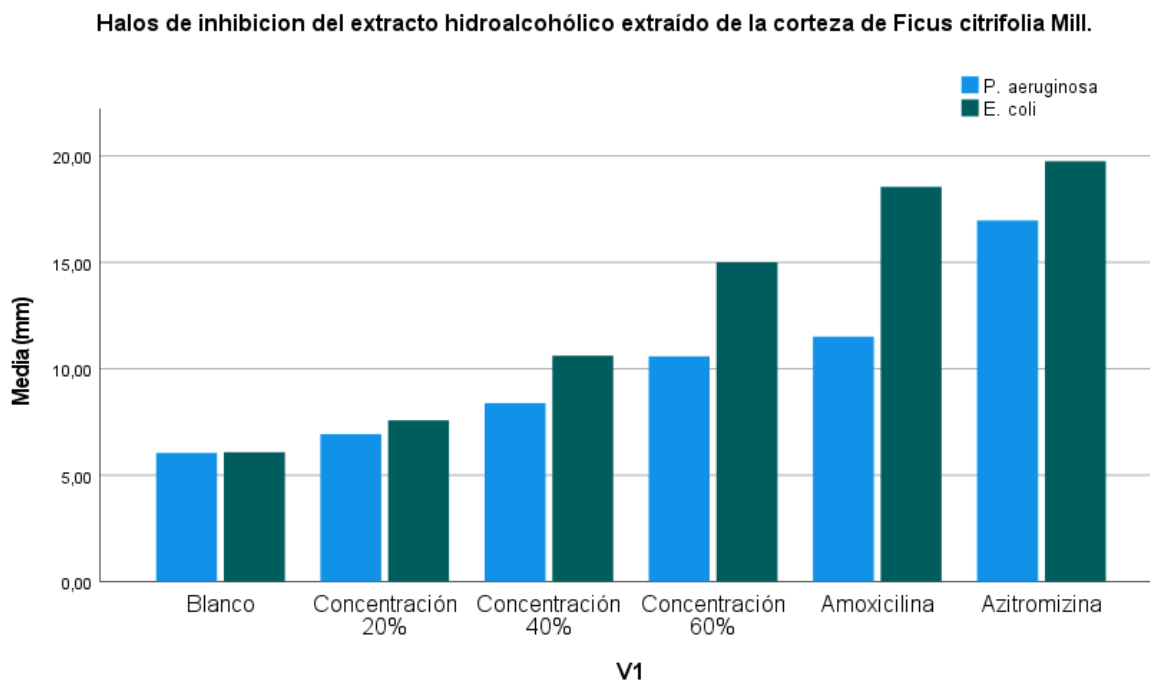
Fuente: Elaboración propia

Se comparó los resultados de los halos de inhibición obtenidos, según la escala de Duraffourd y Lapraz.

Escala interpretativa Duraffourd y Lapraz (1983)

- (-) Nula: Diámetro (< 8 mm)
- (+) Sensible bajo: Diámetro (9 - 14 mm)
- (++) Muy sensible: Diámetro (15 - 19 mm)
- (+++) Sumamente sensible: Diámetro (> 20 mm)

En la Tabla 4 y Figura 1 se observan los resultados promedio de los halos de inhibición (mm) de los dos días en que se realizó el ensayo, el halo representa el efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de corteza de *Ficus citrifolia* Mill. frente a cepas de *Escherichia coli* ATCC 8739 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027. Para la medición se utilizó un vernier.



**Fuente:** Elaboración propia

**Figura N°1.** Efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de corteza de *Ficus citrifolia* Mill.

Según la escala interpretativa en mención, la cepa de *Escherichia coli* ATCC 8739, tanto para el blanco como a la concentración del 20%, se muestran valores menores a 8 mm, es decir no hay actividad antibacteriana (nula), a una concentración del 40% la cepa presenta una sensibilidad baja, con 10 mm aproximadamente. La concentración del 60 %, es muy sensible, aunque los valores obtenidos se encuentran en el límite inferior. Para los controles positivos, amoxicilina y azitromicina, la cepa es muy sensible, con valores aproximados de 18 mm y 19 mm respectivamente.

Con respecto a la cepa de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 tanto para el blanco como para la concentración del 20% y 40% se muestran valores menores a 8 mm, no hay actividad antibacteriana (nula), aunque la concentración del 40% se encuentran en el límite de la escala interpretativa Duraffourd y Lapraz. La concentración del 60 % presenta una sensibilidad baja, teniendo 10 mm aproximadamente, como diámetros de los halos. Para los controles positivos, en el caso amoxicilina esta cepa presenta sensibilidad baja, y para azitromicina la cepa es muy sensible, con valores aproximados de 11 mm y 17 mm respectivamente.

### **3.4 Contrastación de hipótesis**

Para contrastar las hipótesis de investigación (H1), se utilizaron pruebas estadísticas paramétricas, donde se procesaron los resultados según las hipótesis planteadas por el investigador. Para poder desarrollar el experimento in vitro se evaluó la actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico de corteza de *Ficus citrifolia* Mill. frente a cepas *Escherichia coli* ATCC 8739 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 en diferentes grupos de estudio, realizados a concentraciones al 20%, 40% y 60%, además de ello se utilizaron controles de calidad para evaluar el desempeño del trabajo, como control positivo Amoxicilina y Azitromicina, cada uno de ellos con 5 repeticiones por grupo, los resultados fueron interpretados según la escala estandarizada de Duraffourd y Lapraz.

#### **4.2.1 Contrastación de hipótesis general**

**H0:** El extracto hidroalcohólico de corteza de *Ficus citrifolia* Mill. al 20%, 40% y 60% no posee actividad antibacteriana frente a cepas *Escherichia coli* ATCC 8739 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027.

**H1:** El extracto hidroalcohólico de corteza de *Ficus citrifolia* Mill. al 20%, 40% y 60% posee actividad antibacteriana frente a cepas *Escherichia coli* ATCC 8739 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027.

Para poder definir la hipótesis, se realiza los análisis estadísticos de los halos obtenidos por la actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico de corteza de *Ficus citrifolia* Mill., los resultados se muestran en la Tabla 5, donde se considera la media, desviación estándar, error estándar, límites de confianza y valores mínimo y máximo para cada grupo de estudio con cada cepa bacteriana, se observa que todos los resultados obtenidos se encuentran dentro de los límites de confianza. Se evalúa la media de los diámetros de los halos de inhibición obtenidos frente la escala de sensibilidad de Duraffourd y Lapraz.

Para la cepa de *Escherichia coli* ATCC 8739, el blanco no presenta actividad antibacteriana, con una media de  $6.08 \pm 0.02541$  mm, el cual corresponde al diámetro del disco (6.00 mm), en la concentración al 20% del extracto hidroalcohólico de corteza de *Ficus citrifolia* Mill. se obtuvo una sensibilidad nula con una media de  $7.58 \pm 0.16240$  mm, al 40% una sensibilidad baja con una media de  $10.62 \pm 0.07159$  mm y al 60% muy sensible con una media de  $15.01 \pm 0.06471$  mm, aunque este último valor está en el límite inferior de la escala de comparación. La cepa *Escherichia coli* ATCC 8739 dio como resultado muy sensible frente a los controles de Amoxicilina y Azitromicina ( $18.55 \pm 0.25958$  mm y  $19.75 \pm 0.24073$  mm respectivamente), estando cerca del límite superior.

**Tabla 5.** Estadísticos descriptivos de la actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico de corteza de *Ficus citrifolia* Mill. frente a cepas de *E. coli* ATCC 8739 y *P. aeruginosa* ATCC 9027.

		Descriptivos							
		N	Media	Desviación estándar	Error estándar	95% de intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
						Límite inferior	Límite superior		
E. coli	Blanco	5	6,0800	,02541	,01137	6,0484	6,1116	6,05	6,11
	Concentración 20%	5	7,5800	,16240	,07263	7,3783	7,7817	7,40	7,78
	Concentración 40%	5	10,6200	,07159	,03202	10,5311	10,7089	10,53	10,70
	Concentración 60%	5	15,0050	,06471	,02894	14,9247	15,0853	14,95	15,08
	Amoxicilina	5	18,5533	,25958	,11609	18,2310	18,8756	18,35	18,84
	Azitromicina	5	19,7500	,24073	,10766	19,4511	20,0489	19,48	20,00
	Total	30	12,9314	5,30859	,96921	10,9491	14,9136	6,05	20,00

P.	Blanco	5	6,0500	,02500	,01118	6,0190	6,0810	6,03	6,07
aeruginosa	Concentración 20%	5	6,9360	,15805	,07068	6,7398	7,1322	6,75	7,13
	Concentración 40%	5	8,3950	,23611	,10559	8,1018	8,6882	8,18	8,68
	Concentración 60%	5	10,5850	,12942	,05788	10,4243	10,7457	10,43	10,73
	Amoxicilina	5	11,5117	,36745	,16433	11,0554	11,9679	11,09	11,95
	Azitromicina	5	16,9650	,13076	,05848	16,8026	17,1274	16,82	17,09
	Total	30	10,0738	3,68765	,67327	8,6968	11,4508	6,03	17,09

Fuente: Elaboración propia

Se observa que para la cepa de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, el blanco no tiene actividad antibacteriana, con una media de  $6.05 \pm 0.02500$  mm, el cual corresponde al diámetro del disco (6.00 mm). Considerando la escala de Duraffourd, se observó que las concentraciones del extracto hidroalcohólico de corteza de *Ficus citrifolia* Mill. al 20% y al 40 % obtuvieron una sensibilidad nula con una media de  $6.94 \pm 0.15805$  mm y  $8,40 \pm 0.23611$  mm respectivamente, y al 60% una sensibilidad baja ( $10.59 \pm 0.12942$  mm), también presenta una sensibilidad baja para el control de Amoxicilina ( $11.51 \pm 0.36745$  mm) y la cepa es muy sensible para el control de Azitromicina ( $16.97 \pm 0.13076$  mm).

Ambas cepas presentan actividad antibacteriana, con diferentes grados de sensibilidad, al 60% la cepa de *Escherichia coli* ATCC 8739 es muy sensible y al 60 % presenta una sensibilidad baja para *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027. Por lo tanto, se rechaza la hipótesis nula (H0) y se acepta la hipótesis alterna (H1).

Conclusión: El extracto hidroalcohólico de corteza de *Ficus citrifolia* Mill. al 60% posee actividad antibacteriana frente a cepas *Escherichia coli* ATCC 8739 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027.

#### 4.2.2 Contrastación de hipótesis específica

##### - Hipótesis específica 1:

**H0:** El extracto hidroalcohólico de corteza de *Ficus citrifolia* Mill. no posee metabolitos secundarios con actividad antibacteriana.



**H1:** El extracto hidroalcohólico de corteza de *Ficus citrifolia* Mill. posee metabolitos secundarios con actividad antibacteriana.

Para contrastar esta hipótesis, se realizó la prueba de la Marcha Fitoquímica por el Método de Olga Lock, la determinación se realizó mediante pruebas cualitativas de coloración y precipitación, dependiendo los grupos químicos presentes en la muestra vegetal, se identificó los metabolitos secundarios con actividad antibacteriana, en Tabla N° 3, se evidencia el cambio notable de color que corresponde a los alcaloides según el reactivo Dragendorff (+++), seguida de otros metabolitos como los flavonoides (+).

La presencia de estos metabolitos secundarios estaría relacionada con la actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico de corteza de *Ficus citrifolia* Mill.

Por lo tanto, se rechaza la hipótesis nula (H0) y se acepta la hipótesis alterna (H1).

Conclusión: El extracto hidroalcohólico de corteza de *Ficus citrifolia* Mill. posee metabolitos secundarios con actividad antibacteriana.

#### **- Hipótesis específica 2:**

**H0:** El extracto hidroalcohólico de corteza de *Ficus citrifolia* Mill. no posee efecto inhibitorio a mayor concentración frente a cepas de *Escherichia coli* ATCC 8739 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027

**H1:** El extracto hidroalcohólico de corteza de *Ficus citrifolia* Mill. posee efecto inhibitorio a mayor concentración frente a cepas de *Escherichia coli* ATCC 8739 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027.

Para poder elegir la prueba estadística a realizar debemos verificar el cumplimiento de los supuestos: prueba de normalidad y prueba de homogeneidad de varianzas.

La prueba de normalidad nos indica que los halos de inhibición obtenidos presentan una distribución normal, en este caso se utilizó la prueba de Shapiro-Wilk, debido a que la muestra es menor a 30 unidades, en la Tabla 6, se muestra que el p-

valor(sig) donde resulta ser mayor a 0.05 para todos los grupos de estudio, por lo tanto, los resultados presentan distribución normal. La prueba de homogeneidad de varianzas nos ayuda a determinar si las varianzas de cada tratamiento aplicado son iguales o diferentes estadísticamente, depende de ello para determinar el tipo de prueba estadística inferencial a ser aplicado. Para ello se emplea el estadístico de Levene, en la Tabla 7 observamos que p-valor (sig) es mayor a 0.05, por lo tanto, se concluye que las varianzas de los tratamientos aplicados son homogéneas, por consiguiente; al cumplir con los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianza aplicaremos pruebas paramétricas, en este caso la prueba de ANOVA, que nos permitirá determinar si existe diferencia significativa entre los grupos de estudio y la prueba de Tukey con la que elegiremos el mejor tratamiento, si resultara significativo por la prueba de ANOVA.

**Tabla 6.** Prueba de Normalidad de los halos de inhibición del extracto hidroalcohólico de corteza de *Ficus citrifolia* Mill. frente a cepas de *E. coli* ATCC 8739 y *P. aeruginosa* ATCC 9027.

V1		Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	Gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
P. aeruginosa	Blanco	,241	5	,200*	,821	5	,119
	Concentración 20%	,250	5	,200*	,915	5	,497
	Concentración 40%	,294	5	,181	,825	5	,127
	Concentración 60%	,221	5	,200*	,915	5	,501
	Amoxicilina	,203	5	,200*	,931	5	,606
	Azitromicina	,254	5	,200*	,836	5	,154
E. coli	Blanco	,203	5	,200*	,923	5	,549
	Concentración 20%	,233	5	,200*	,908	5	,458
	Concentración 40%	,179	5	,200*	,962	5	,823
	Concentración 60%	,279	5	,200*	,766	5	,041
	Amoxicilina	,354	5	,040	,716	5	,014
	Azitromicina	,225	5	,200*	,874	5	,281

\*. Esto es un límite inferior de la significación verdadera.

a. Corrección de significación de Lilliefors

Fuente: Elaboración propia

**Tabla 7.** Prueba de Homogeneidad de varianzas del extracto hidroalcohólico de corteza de *Ficus citrifolia* Mill. *E. coli* ATCC 8739 y *P. aeruginosa* ATCC 9027

**Pruebas de homogeneidad de varianzas**

	Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
P. aeruginosa	2,514	5	24	,058
E. coli	1,913	5	24	,130

Fuente: Elaboración propia

**Tabla 8.** Prueba de ANOVA de los halos obtenidos frente a la cepa de *E. coli* ATCC 8739 y *P. aeruginosa* ATCC 9027

**ANOVA**

		Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
E. coli	Entre grupos	816,605	5	163,321	6061,398	,000
	Dentro de grupos	,647	24	,027		
	Total	817,252	29			
P. aeruginosa	Entre grupos	393,363	5	78,673	1886,458	,000
	Dentro de grupos	1,001	24	,042		
	Total	394,364	29			

Fuente: Elaboración propia

La prueba ANOVA nos permite verificar si existen diferencias significativas entre los tratamientos aplicados comparando la medida de cada uno de ellos. Al observar el resultado  $p < 0.05$  (sig), en la Tabla 8, tanto para la cepa de *Escherichia coli* ATCC 9027 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, se afirma que existe diferencias significativas entre los tratamientos aplicados, para determinar qué medidas son estadísticamente diferentes se debe aplicar pruebas POST HOC, en este caso se aplicará la prueba de Tukey.

**Tabla 9.** Comparaciones múltiples de los halos de inhibición de *E. coli* ATCC 8739 y *P. aeruginosa* ATCC 9027 – Prueba de HSD TUKEY.

		Comparaciones múltiples					Intervalo de confianza al 95%	
Variable dependiente		(I) V1	(J) V1	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Límite inferior	Límite superior
E. coli	HSD Tukey	Blanco	Concentración 20%	-1,50000*	,10382	,000	-1,8210	-1,1790
			Concentración 40%	-4,54000*	,10382	,000	-4,8610	-4,2190
			Concentración 60%	-8,92500*	,10382	,000	-9,2460	-8,6040
			Amoxicilina	-12,47333*	,10382	,000	-12,7943	-12,1523
			Azitromicina	-13,67000*	,10382	,000	-13,9910	-13,3490
		Concentración 20%	Blanco	1,50000*	,10382	,000	1,1790	1,8210
			Concentración 40%	-3,04000*	,10382	,000	-3,3610	-2,7190
			Concentración 60%	-7,42500*	,10382	,000	-7,7460	-7,1040
			Amoxicilina	-10,97333*	,10382	,000	-11,2943	-10,6523
			Azitromicina	-12,17000*	,10382	,000	-12,4910	-11,8490
		Concentración 40%	Blanco	4,54000*	,10382	,000	4,2190	4,8610
			Concentración 20%	3,04000*	,10382	,000	2,7190	3,3610
			Concentración 60%	-4,38500*	,10382	,000	-4,7060	-4,0640
			Amoxicilina	-7,93333*	,10382	,000	-8,2543	-7,6123
			Azitromicina	-9,13000*	,10382	,000	-9,4510	-8,8090
		Concentración 60%	Blanco	8,92500*	,10382	,000	8,6040	9,2460
			Concentración 20%	7,42500*	,10382	,000	7,1040	7,7460
			Concentración 40%	4,38500*	,10382	,000	4,0640	4,7060
			Amoxicilina	-3,54833*	,10382	,000	-3,8693	-3,2273
			Azitromicina	-4,74500*	,10382	,000	-5,0660	-4,4240
	Amoxicilina	Blanco	12,47333*	,10382	,000	12,1523	12,7943	
		Concentración 20%	10,97333*	,10382	,000	10,6523	11,2943	
		Concentración 40%	7,93333*	,10382	,000	7,6123	8,2543	
		Concentración 60%	3,54833*	,10382	,000	3,2273	3,8693	
		Azitromicina	-1,19667*	,10382	,000	-1,5177	-,8757	
	Azitromicina	Blanco	13,67000*	,10382	,000	13,3490	13,9910	
		Concentración 20%	12,17000*	,10382	,000	11,8490	12,4910	
		Concentración 40%	9,13000*	,10382	,000	8,8090	9,4510	
		Concentración 60%	4,74500*	,10382	,000	4,4240	5,0660	
		Amoxicilina	1,19667*	,10382	,000	,8757	1,5177	
	DMS	Blanco	Concentración 20%	-1,50000*	,10382	,000	-1,7143	-1,2857

		Concentración 40%	-4,54000*	,10382	,000	-4,7543	-4,3257	
		Concentración 60%	-8,92500*	,10382	,000	-9,1393	-8,7107	
		Amoxicilina	-12,47333*	,10382	,000	-12,6876	-12,2591	
		Azitromicina	-13,67000*	,10382	,000	-13,8843	-13,4557	
Concentración		Blanco	1,50000*	,10382	,000	1,2857	1,7143	
	20%	Concentración 40%	-3,04000*	,10382	,000	-3,2543	-2,8257	
		Concentración 60%	-7,42500*	,10382	,000	-7,6393	-7,2107	
		Amoxicilina	-10,97333*	,10382	,000	-11,1876	-10,7591	
		Azitromicina	-12,17000*	,10382	,000	-12,3843	-11,9557	
Concentración		Blanco	4,54000*	,10382	,000	4,3257	4,7543	
	40%	Concentración 20%	3,04000*	,10382	,000	2,8257	3,2543	
		Concentración 60%	-4,38500*	,10382	,000	-4,5993	-4,1707	
		Amoxicilina	-7,93333*	,10382	,000	-8,1476	-7,7191	
		Azitromicina	-9,13000*	,10382	,000	-9,3443	-8,9157	
Concentración		Blanco	8,92500*	,10382	,000	8,7107	9,1393	
	60%	Concentración 20%	7,42500*	,10382	,000	7,2107	7,6393	
		Concentración 40%	4,38500*	,10382	,000	4,1707	4,5993	
		Amoxicilina	-3,54833*	,10382	,000	-3,7626	-3,3341	
		Azitromicina	-4,74500*	,10382	,000	-4,9593	-4,5307	
Amoxicilina		Blanco	12,47333*	,10382	,000	12,2591	12,6876	
		Concentración 20%	10,97333*	,10382	,000	10,7591	11,1876	
		Concentración 40%	7,93333*	,10382	,000	7,7191	8,1476	
		Concentración 60%	3,54833*	,10382	,000	3,3341	3,7626	
		Azitromicina	-1,19667*	,10382	,000	-1,4109	-,9824	
Azitromicina		Blanco	13,67000*	,10382	,000	13,4557	13,8843	
		Concentración 20%	12,17000*	,10382	,000	11,9557	12,3843	
		Concentración 40%	9,13000*	,10382	,000	8,9157	9,3443	
		Concentración 60%	4,74500*	,10382	,000	4,5307	4,9593	
		Amoxicilina	1,19667*	,10382	,000	,9824	1,4109	
P. aeruginosa	HSD Tukey	Blanco	Concentración 20%	-,88600*	,12916	,000	-1,2853	-,4867
			Concentración 40%	-2,34500*	,12916	,000	-2,7443	-1,9457
			Concentración 60%	-4,53500*	,12916	,000	-4,9343	-4,1357
			Amoxicilina	-5,46167*	,12916	,000	-5,8610	-5,0623
			Azitromicina	-10,91500*	,12916	,000	-11,3143	-10,5157
		Concentración	Blanco	,88600*	,12916	,000	,4867	1,2853
		20%	Concentración 40%	-1,45900*	,12916	,000	-1,8583	-1,0597
			Concentración 60%	-3,64900*	,12916	,000	-4,0483	-3,2497
			Amoxicilina	-4,57567*	,12916	,000	-4,9750	-4,1763
			Azitromicina	-10,02900*	,12916	,000	-10,4283	-9,6297
			Blanco	2,34500*	,12916	,000	1,9457	2,7443

Concentración 40%	Concentración 20%	1,45900*	,12916	,000	1,0597	1,8583
	Concentración 60%	-2,19000*	,12916	,000	-2,5893	-1,7907
	Amoxicilina	-3,11667*	,12916	,000	-3,5160	-2,7173
	Azitromicina	-8,57000*	,12916	,000	-8,9693	-8,1707
Concentración 60%	Blanco	4,53500*	,12916	,000	4,1357	4,9343
	Concentración 20%	3,64900*	,12916	,000	3,2497	4,0483
	Concentración 40%	2,19000*	,12916	,000	1,7907	2,5893
	Amoxicilina	-,92667*	,12916	,000	-1,3260	-,5273
	Azitromicina	-6,38000*	,12916	,000	-6,7793	-5,9807
Amoxicilina	Blanco	5,46167*	,12916	,000	5,0623	5,8610
	Concentración 20%	4,57567*	,12916	,000	4,1763	4,9750
	Concentración 40%	3,11667*	,12916	,000	2,7173	3,5160
	Concentración 60%	,92667*	,12916	,000	,5273	1,3260
	Azitromicina	-5,45333*	,12916	,000	-5,8527	-5,0540
Azitromicina	Blanco	10,91500*	,12916	,000	10,5157	11,3143
	Concentración 20%	10,02900*	,12916	,000	9,6297	10,4283
	Concentración 40%	8,57000*	,12916	,000	8,1707	8,9693
	Concentración 60%	6,38000*	,12916	,000	5,9807	6,7793
	Amoxicilina	5,45333*	,12916	,000	5,0540	5,8527
DMS Blanco	Concentración 20%	-,88600*	,12916	,000	-1,1526	-,6194
	Concentración 40%	-2,34500*	,12916	,000	-2,6116	-2,0784
	Concentración 60%	-4,53500*	,12916	,000	-4,8016	-4,2684
	Amoxicilina	-5,46167*	,12916	,000	-5,7282	-5,1951
	Azitromicina	-10,91500*	,12916	,000	-11,1816	-10,6484
Concentración 20%	Blanco	,88600*	,12916	,000	,6194	1,1526
	Concentración 40%	-1,45900*	,12916	,000	-1,7256	-1,1924
	Concentración 60%	-3,64900*	,12916	,000	-3,9156	-3,3824
	Amoxicilina	-4,57567*	,12916	,000	-4,8422	-4,3091
	Azitromicina	-10,02900*	,12916	,000	-10,2956	-9,7624
Concentración 40%	Blanco	2,34500*	,12916	,000	2,0784	2,6116
	Concentración 20%	1,45900*	,12916	,000	1,1924	1,7256
	Concentración 60%	-2,19000*	,12916	,000	-2,4566	-1,9234
	Amoxicilina	-3,11667*	,12916	,000	-3,3832	-2,8501
	Azitromicina	-8,57000*	,12916	,000	-8,8366	-8,3034
Concentración 60%	Blanco	4,53500*	,12916	,000	4,2684	4,8016
	Concentración 20%	3,64900*	,12916	,000	3,3824	3,9156
	Concentración 40%	2,19000*	,12916	,000	1,9234	2,4566
	Amoxicilina	-,92667*	,12916	,000	-1,1932	-,6601
	Azitromicina	-6,38000*	,12916	,000	-6,6466	-6,1134
Amoxicilina	Blanco	5,46167*	,12916	,000	5,1951	5,7282

	Concentración 20%	4,57567*	,12916	,000	4,3091	4,8422
	Concentración 40%	3,11667*	,12916	,000	2,8501	3,3832
	Concentración 60%	,92667*	,12916	,000	,6601	1,1932
	Azitromicina	-5,45333*	,12916	,000	-5,7199	-5,1868
Azitromicina	Blanco	10,91500*	,12916	,000	10,6484	11,1816
	Concentración 20%	10,02900*	,12916	,000	9,7624	10,2956
	Concentración 40%	8,57000*	,12916	,000	8,3034	8,8366
	Concentración 60%	6,38000*	,12916	,000	6,1134	6,6466
	Amoxicilina	5,45333*	,12916	,000	5,1868	5,7199

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

Fuente: Elaboración propia

La prueba de Tukey es una prueba estadística que nos permite realizar comparaciones múltiples y además determina que medias son estadísticamente homogéneas. En la Tabla 9, se observa que existen diferencias significativas entre los grupos de estudio, dado que; en todos los casos se observa que el valor de Sig es  $< 0.05$ . Por ello se debe aplicar la prueba de subconjuntos de Tukey para identificar las diferencias antes mencionadas.

**Tabla 10.** Prueba de subconjuntos de Tukey para *E. coli* ATCC 8739

**E. coli**

V1	N	Subconjunto para alfa = 0.05						
		1	2	3	4	5	6	
HSD Tukey <sup>a</sup>	Blanco	5	6,0800					
	Concentración 20%	5		7,5800				
	Concentración 40%	5			10,6200			
	Concentración 60%	5				15,0050		
	Amoxicilina	5					18,5533	
	Azitromicina	5						19,7500
	Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

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

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 5,000.

Fuente: Elaboración propia

**Tabla 11.** Prueba de subconjuntos de Tukey para *P. aeruginosa* ATCC 9027

**P. aeruginosa**

V1	N	Subconjunto para alfa = 0.05						
		1	2	3	4	5	6	
HSD Tukey <sup>a</sup>	Blanco	5	6,0500					
	Concentración 20%	5		6,9360				
	Concentración 40%	5			8,3950			
	Concentración 60%	5				10,5850		
	Amoxicilina	5					11,5117	
	Azitromicina	5						16,9650
	Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

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

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 5,000.

Fuente: Elaboración propia

En las tablas 10 y 11, podemos observar que todas las medias de los tratamientos aplicados son distintas, además a mayor concentración del extracto se observa una mayor inhibición, halos más grandes (se observa en forma de escalera), en ambos casos el extracto hidroalcohólico de corteza de *Ficus citrifolia* Mill. al 60 % frente a cepas de *Escherichia coli* ATCC 8739 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 tiene mayor diámetro, dando como resultados halos de 15,00 mm (muy sensible) en el caso de *E. coli* ATCC 8739 y 10.59 mm (sensibilidad baja) para el caso de *P. aeruginosa* ATCC 9027, esto también se visualiza en la Figura 1. Por lo tanto, se acepta la hipótesis alterna (H1) y se rechaza la hipótesis nula (H0).

Conclusión: El extracto hidroalcohólico de corteza de *Ficus citrifolia* Mill. al 60% posee efecto inhibitorio frente a cepas de *Escherichia coli* ATCC 8739 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027.

**- Hipótesis específica 3**



**H0:** La susceptibilidad antibacteriana de las cepas de *Escherichia coli* ATCC 8739 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 frente al extracto hidroalcohólico de corteza de *Ficus citrifolia* Mill. al 20%, 40% y 60% no presenta mayor inhibición comparada con una penicilina (amoxicilina) y un macrólido (azitromicina).

**H1:** La susceptibilidad antibacteriana de las cepas *Escherichia coli* ATCC 8739 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 frente al extracto hidroalcohólico de corteza de *Ficus citrifolia* Mill. al 20%, 40% y 60% presenta mayor inhibición comparada con una penicilina (amoxicilina) y un macrólido (azitromicina).

En la Tablas 10 y 11, se evidencia tanto para las cepas de *Escherichia coli* ATCC 8739 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, que las medias de los diámetros a diferentes concentraciones son inferiores a los obtenidos por los controles positivos Amoxicilina y Azitromicina, ello indica que los antibióticos utilizados como controles positivos tienen mayor diámetro de inhibición. Por lo tanto, se acepta la Hipótesis nula (H0) y se rechaza la Hipótesis alterna (H1).

**Conclusión:** La susceptibilidad antibacteriana de las cepas de *Escherichia coli* ATCC 8739 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 frente al extracto hidroalcohólico de corteza de *Ficus citrifolia* Mill. al 20%, 40% y 60% no presenta mayor inhibición comparada con una penicilina (amoxicilina) y un macrólido (azitromicina).

## IV. DISCUSIÓN

### 4.1 Discusión de resultados

Debido al incremento de la resistencia bacteriana y la necesidad de buscar nuevas alternativas terapéuticas que nos ayuden al tratamiento de las infecciones causadas por bacterias, se ha convertido en un desafío continuo la búsqueda de nuevos compuestos bioactivos con actividad terapéutica que se encuentren presentes en las plantas. Por consiguiente, la presente investigación tiene por objetivo principal determinar la actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico de corteza de *Ficus citrifolia* Mill. frente a cepas de *Escherichia coli* ATCC 8739 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 para ello se concentró el extracto al 20 %, 40 % y al 60 %.

En referencia a la primera hipótesis específica, el tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico de corteza *Ficus citrifolia* Mill. demostró la presencia de metabolitos secundarios como alcaloides y flavonoides, lo cual coincide con lo reportado por Nwankwo I. y Ukaegbu-Obi K. (2014) en su estudio del extracto etanólico de la raíz de *Ficus asperifolia* en el cual encontró presencia de flavonoides y alcaloides; además mencionan que las plantas que contienen algunos de los siguientes metabolitos secundarios como taninos, terpenoides, alcaloides y polifenoles tienden por lo general a tener actividad antimicrobiana<sup>40</sup>.

En otro estudio realizado por Raisagar A. y colaboradores (2019) encontraron en la corteza de *Ficus religiosa* y *Ficus benghalensis*, presencia de taninos, saponinas, flavonoides, terpenoides y fenoles, sin embargo, no se detectó la presencia de alcaloides como en el caso de *Ficus Citrifolia* Mill. Además, consideran que los flavonoides y triterpenoides serían los responsables de la actividad antibacteriana<sup>41</sup>. Esta diferencia en el hallazgo de metabolitos secundarios podría deberse a que las plantas eran originarias de la India, y el hábitat es un factor importante para obtener presencia de metabolitos secundarios.

Chandra S. y Saklani S. (2017) aislaron de las hojas de *Ficus palmata* un tipo de flavonoide, la catequina, la cual mostró actividad antimicrobiana frente a *Bacillus cereus*, *Salmonella entericatyphim*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* y *Streptococcus pyogenes*<sup>42</sup>.

Otra investigación realizada por Balbuena Escalona V. (2012) donde evaluó el efecto antimicrobiano, obtuvo un resultado positivo al enfrentar flavonoides obtenidos de extractos de hojas de *Tamarindus indica* Lin. con cepas de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*; además menciona que los flavonoides podrían ser responsables del efecto de inhibición de crecimiento bacteriano induciendo a la ruptura de su ADN en un sitio determinado; por bloqueo del complejo aminoacil transferasa, por intercalación entre bases de DNA alterando la síntesis de ácido nucleico o por la formación de dímeros de timina,<sup>43</sup> con lo que se podría atribuir el efecto antibacteriano hallado en el extracto hidroalcohólico de *Ficus Citrifolia* Mill. a este metabolito secundario.

Aparecida F. (2011) estudió la actividad antibacteriana de los siguientes flavonoides (fisetina, 3-hidroxiavona, 5-hidroxiavona, 7-hidroxiavona, quercetina, flavona, kaempferol, luteolina, crisina e galangina) frente a dos microorganismos *Staphylococcus aureus* (Gram positiva) y *Escherichia coli* (Gram negativa) obteniendo una mayor sensibilidad en la cepa Gram positiva<sup>44</sup>. En nuestra evaluación la sensibilidad para cepas Gram negativas fue baja, siendo la más alta con la concentración al 60% para *Escherichia coli*.

Por su parte Sprenger L. y colaboradores (2017) en su estudio del extracto hidroalcohólico de hojas *Ficus Carica* E. encontraron actividad antibacteriana frente a *Clostridium perfringens*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*. También menciona que la actividad antibacteriana puede basarse en el contenido de metabolitos secundarios tales como flavonoides; los cuales oxidan elementos de la pared celular, principalmente peptidoglicanos, formando poros, comprometiendo la integridad de la pared y volviendo a las bacterias susceptibles a agentes externos. La degradación de las bacterias Gram

positivas es menor en comparación con las bacterias Gram negativas debido a la estructura más compleja y al mayor contenido de lípidos de la pared celular, lo que puede hacer que los patógenos sean más resistentes a agentes externos<sup>32</sup>, ello explicaría los resultados obtenidos.

En referencia a la segunda hipótesis específica se obtuvieron los siguientes resultados; tanto para el caso de la cepa de *Escherichia coli* ATCC 8739 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027. El blanco no presenta actividad antibacteriana, con un diámetro  $6.08 \pm 0.02541$  mm y  $6.05 \pm 0.02500$  mm respectivamente, el cual corresponde al diámetro del disco (6.00 mm). Frente a cepas de *E. coli* ATCC 8739 el extracto hidroalcohólico de corteza de *Ficus citrifolia* Mill. al 20 %, obtuvo una sensibilidad nula con una media de  $7.58 \pm 0.16240$  mm, al 40% una sensibilidad baja con una media de  $10.62 \pm 0.07159$  mm y al 60% muy sensible con una media de  $15.01 \pm 0.06471$  mm, aunque este valor está en el límite inferior de la escala de comparación. Frente a cepas de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 se obtuvo una sensibilidad nula a concentraciones del 20% y 40 % con una media de  $6.94 \pm 0.15805$  mm y  $8.40 \pm 0.23611$  mm respectivamente, y al 60% una sensibilidad baja ( $10.59 \pm 0.12942$  mm).

Estos resultados se alinean a lo descrito por Nwankwo I. y Ukaegbu-Obi K. (2014) donde mencionan que probablemente las bacterias Gram negativas muestran una mayor resistencia a extractos de plantas, que las bacterias Gram positivas. Esto puede darse por la diferencia en la estructura de la pared celular de las Gram positivas y Gram negativas, ya que las bacterias Gram negativas tienen una membrana exterior que se compone de lipopolisacáridos de alta densidad que sirve como barrera para muchas sustancias ambientales, incluidos los antibióticos<sup>40</sup>.

En la tercera hipótesis específica podemos mencionar que la cepa *Escherichia coli* ATCC 8739 dio como resultado muy sensible frente a los controles de Amoxicilina y Azitromicina ( $18.55 \pm 0.25958$  mm y  $19.75 \pm 0.24073$  mm respectivamente), estando cerca del límite superior.

Para el caso de las cepas de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 se presenta una sensibilidad baja para el control de Amoxicilina ( $11.51 \pm 0.36745$  mm) y muy sensible para el control de Azitromicina ( $16.97 \pm 0.13076$  mm).

Cabe mencionar que en el control negativo (solución hidroalcohólica) no se encontró ningún halo de inhibición lo que nos valida que el efecto antibacteriano encontrado del extracto hidroalcohólico de corteza de *Ficus citrifolia* Mill se debe 100% a propiedades de la planta y no al vehículo con el que se maceró.

Se ha validado que estos antibióticos presentan una mejor inhibición comparada con las diferentes concentraciones estudiadas, lo cual se asemeja con lo obtenido por Nwankwo I. (2014) en su estudio sobre la detección preliminar de fitoquímicos y actividad antibacteriana de dos plantas medicinales nigerianas (*Ficus asperifolia* y *Terminalis catappa*), donde obtuvo una mejor inhibición para el antibiótico Gentamicina que uso en su estudio, comparado con el extracto de raíces de *F. asperifolia* frente a cepas de *E. coli*, *S. aureus* y *P. mirabilis*. Otro dato importante a mencionar de este autor es que los resultados de inhibición obtenido para la *P. aeruginosa* demostraron actividad antimicrobiana moderada para extracto de *T. catappa* contra *P. aeruginosa* (quien menciona que se ha planteado un gran problema en el tratamiento de las infecciones causadas por ella como resultado de su resistencia a la mayoría de los antibióticos). Lo cual se asemeja a nuestros datos obtenidos referente a esta bacteria<sup>40</sup>.

## 4.2 Conclusiones

- Los metabolitos encontrados en el extracto hidroalcohólico de corteza de *Ficus citrifolia* Mill. fueron alcaloides y flavonoides, estos serían los responsables de la actividad antibacteriana frente a cepas de *Escherichia coli* ATCC 8739 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027.
- La concentración en la cual el extracto hidroalcohólico de corteza de *Ficus citrifolia* Mill. presenta mayor efecto antibacteriano es al 60%, tanto para la cepa de *Escherichia coli* ATCC 8739 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027.
- Los antibióticos Amoxicilina (penicilina) y Azitromicina (macrólido) presentan mayor actividad antibacteriana comparada con todas las concentraciones de extracto hidroalcohólico de corteza de *Ficus citrifolia* Mill. (20%, 40% y 60%), tanto para cepas de *Escherichia coli* ATCC 8739 como cepas de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027.

## 4.3 Recomendaciones

- Debido a su presencia de flavonoides cuya propiedad es antioxidante puede ser de importancia y apoyo para la aplicación y/o estudios posteriores para la formulación de productos antioxidantes o productos con fines de industrialización o innovación tecnológica.
- Se sugiere continuar con investigaciones a fin de consolidar mejores resultados, ya que sería importante encontrar puntos que ajusten concentraciones en forma de dosis, efectuando pruebas a mayores concentraciones y hallando la concentración mínima inhibitoria.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. González Mendoza J, Maguiña Vargas C, González Ponce FM. La resistencia a los antibióticos: un problema muy serio. Acta Med Perú [Internet]. 2019 [citado 4 Dic 2020]; 36(2): 145-51. Disponible en: [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1728-59172019000200011&lng=es](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1728-59172019000200011&lng=es).
2. Rocha C, Reynolds ND, Simons, MP. Resistencia emergente a los antibióticos: una amenaza global y un problema crítico en el cuidado de la salud. Rev. Perú Med. Exp. Salud Pública [Internet]. 2015 [citado 4 Dic 2020]; 32(1):139-45. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=36338592020>
3. Vanegas-Múnica JM, Jiménez-Quiceno JN. Resistencia antimicrobiana en el siglo XXI: ¿hacia una era post-antibiótica? Rev. Fac. Nac. Salud Pública [Internet]. 2020 [citado 4 Dic 2020]; 38(1): 1-6. Disponible en: <https://revistas.udea.edu.co/index.php/fnsp/article/view/e337759>
4. Organización Mundial de la Salud. Resistencia a los antibióticos [Internet]. Julio 2020 [citado 4 Dic 2020]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/resistencia-a-los-antibi%C3%B3ticos>
5. Espinosa Castaño I, Báez Arias M, Hernández Fillor RE, López Dorta Y, Lobo Rivero E, Corona-González B. Resistencia antimicrobiana en bacterias de origen animal: desafíos para su contención desde el laboratorio. Rev Salud Anim [Internet]. 2019 Dic. [citado 4 Dic 2020]; 41(3): e07. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0253-570X2019000300008&lng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0253-570X2019000300008&lng=es).
6. Carvajal E, Hernández W, Torres M, López D, Rueda E, Vásquez M. Resistencia antimicrobiana de cepas de Escherichia coli aisladas de contenidos de bursa de Fabricio de aves para engorde. Rev. investig. vet. Perú [Internet]. 2019 Ene [citado 8 Dic 2020]; 30(1): 430-37. Disponible en: [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1609-91172019000100042&lng=es](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172019000100042&lng=es) <http://dx.doi.org/10.15381/rivep.v30i1.14648>

7. Gastelo Acosta R, Maguiña Vargas C. Mecanismos de resistencia bacteriana. Diagnostico [Internet]. 2020 [citado 9 Dic 2020]; 57(2): 82-6. Disponible en: <http://142.44.242.51/index.php/diagnostico/article/view/82>
8. Fariñas MC, Martínez-Martínez L. Infecciones causadas por bacterias gramnegativas multirresistentes: enterobacterias, Pseudomonas aeruginosa, Acinetobacter baumannii y otros bacilos gramnegativos no fermentadores. Enferm. Infecc. Microbiol. Clin [Internet]. 2013 [citado 8 Dic 2020]; 31(6) :402–409. Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-articulo-infecciones-causadas-por-bacterias-gramnegativas-S0213005X13000955>
9. Bisso-Andrade A. Resistencia a los antimicrobianos. Rev. Soc. Perú Med Interna [Internet]. 2019 Jul [citado 10 Dic 2020];31(2):50-9. Disponible en: [http://revistamedicinainterna.net/index.php/spmi/article/view/322018;31\(2\):50-59](http://revistamedicinainterna.net/index.php/spmi/article/view/322018;31(2):50-59).
10. Azuero A, Jaramillo C, San Martín D, D´Armas H. Análisis del efecto antimicrobiano de doce plantas medicinales de uso ancestral en Ecuador. Revista Ciencia UNEMI [Internet]. 2016 Dic. [citado 10 Dic 2020]; 9(20): 11-8. Disponible en: <http://ojs.unemi.edu.ec/index.php/cienciaunemi/article/view/342>
11. Morón FJ, Jardines JB. La medicina tradicional en las universidades médicas. Rev Cubana Plant Med [Internet]. 1997 Abr [citado 15 Dic 2020]; 2(1): 35-41. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1028-47961997000100008&lng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47961997000100008&lng=es).
12. Carhuallanqui Pérez A, Salazar-Salvatierra ME, Ramos Delgado D. Efecto antimicrobiano del aceite esencial de Orégano frente a Listeria monocytogenes y Staphylococcus aureus. Rev. investig. Altoandín [Internet]. 2020 Mar [citado 15 Dic 2020]; 22(1): 25-33. Disponible en: [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2313-29572020000100025&lng=es](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2313-29572020000100025&lng=es). <http://dx.doi.org/10.18271/ria.2020.530>.
13. Ramón-Valderrama JA, Galeano-García PL. Actividad antioxidante y antimicrobiana de extractos metanólicos de hojas de plantas del género



- Solanum. Inf. Tecnol [Internet]. 2020 Oct [citado 15 Dic 2020]; 31(5), 33-42. Disponible en: <https://dx.doi.org/10.4067/S0718-07642020000500033>
14. Aparicio-Zambrano R, Rojas-Fermín L, Velasco J, Usubillaga A, Sosa M, Rojas J. Caracterización química y actividad antimicrobiana del aceite esencial de las hojas de *Libanothamnus neriifolius* (Asteraceae). Rev. Perú biol. [Internet]. 2019 Ene. [citado 16 Dic 2020]; 26(1): 95-100. Disponible en: [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1727-99332019000100011&lng=es](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1727-99332019000100011&lng=es). <http://dx.doi.org/10.15381/rpb.v26i1.15912>
  15. Mohammad Amzad H. A review on *Ficus sycomorus*: A potential indigenous medicinal plant in Oman. Journal of King Saud University-Science [Internet]. 2019 [citado 16 Dic 2020]; 31(4): 961-965. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S101836471831036X> <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2018.07.002>
  16. Ibarra-Manríquez G, Cornejo-Tenorio G, González-Castañeda N, Piedra-Malagón EM, Luna A. El género *Ficus* L. (Moraceae) en México. Bot. sci [Internet]. 2012 [citado 17 Dic 2020]; 90(4): 389-452. Disponible en: [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2007-42982012000400004&lng=es](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-42982012000400004&lng=es)
  17. López-Tandazo N, del Cisne-Quichimbo L. Selección de semillas y capacidad de germinación de *Ficus citrifolia* Mill. RFMK [Internet]. 2014 jun [citado 17 Dic 2020]; 11(27):65-9. Disponible en: <https://revistas.tec.ac.cr/index.php/kuru/article/view/1780>
  18. Expósito Paret E, Díaz Cifuentes A, Contreras Tejeda JM, Caraballos Recio T, Caraballos Recio D. Estudio cualitativo de sustancias químicas presentes en la planta *Ficus carica* L. Rev. electron. Zoilo [Internet]. 2017 [citado 17 Dic 2020]; 42(3):[aprox. 0 p.]. Disponible en: <http://revzoilomarinaldo.sld.cu/index.php/zmv/article/view/1065>
  19. Garcia Alvarado KT, Noriega Rivera PF. Caracterización química de los flavonoides presentes en *Ficus citrifolia* Mill [Internet]. Quito: Universidad Politécnica Salesiana; 2015 [citado 17 Dic 2020]. Disponible en: <http://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/9373>
  20. De Mendonça-Souza LR. *Ficus* (Moraceae) no Estado de São Paulo [Internet]. São Paulo: Instituto de Botânica da Secretaria do Meio Ambiente

- 2006 [citado 17 Dic 2020]. Disponible en: [http://arquivos.ambiente.sp.gov.br/pgibt/2013/09/Livia Ribeiro de Mendonca Souza MS.pdf](http://arquivos.ambiente.sp.gov.br/pgibt/2013/09/Livia_Ribeiro_de_Mendonca_Souza_MS.pdf)
21. Flores Bendezu Y. Riqueza arbórea de la Región Ucayali: Problemática, estado del conocimiento y recomendaciones [Internet]. Pucallpa: Instituto Nacional de Investigación Agraria; 2013 [citado 17 Dic 2020]. Disponible en: [https://www.researchgate.net/profile/Ymber Flores Bendezu2/publication/276952563 Riqueza arborea de la Region Ucayali/links/555c8acc08ae86c06b5d3881/Riqueza-arborea-de-la-Region-Ucayali.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Ymber_Flores_Bendezu2/publication/276952563_Riqueza_arborea_de_la_Region_Ucayali/links/555c8acc08ae86c06b5d3881/Riqueza-arborea-de-la-Region-Ucayali.pdf)
22. Fernández Flores J. Efecto cicatrizante del gel del extracto hidroalcohólico y fracciones (cloroformo, acetato de etilo y metanol) de corteza de *Ficus Citrifolia* Mill. en ratones albinos [Internet]. Lima: Universidad Inca Garcilaso de la Vega; 2019 [citado 17 Dic 2020]. Disponible en: <http://repositorio.uigv.edu.pe/handle/20.500.11818/4539>
23. D´Armas H, Vélez Rodríguez Ruth. Evaluación comparativa de metabolitos secundarios, actividad antimicrobiana y letalidad de extractos orgánicos de *Cymbopogon crinitus* (Hierba Luisa) y *Melissa officinalis* (toronjil) [Internet]. Machala: Universidad Técnica de Machala; 2015 [citado 17 Dic 2020]. Disponible en: <http://repositorio.utmachala.edu.ec/handle/48000/2796>
24. Ramirez LS, Marín Castaño D. Metodologías para evaluar in vitro la actividad antibacteriana de compuestos de origen vegetal. *Scientia Et Technica* [Internet]. 2009 [citado 18 Dic 2020], XV (42), 263-268. ISSN: 0122-1701. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=84916714049>
25. Soto Montoya M. Determinación del efecto antimicrobiano in vitro de un gel elaborado con extracto etanólico de hojas de *Senecio rhizomatus* Rusby (Asteraceae) [Internet]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2015 [citado 17 Dic 2020]. Disponible en: <https://hdl.handle.net/20.500.12672/4628>
26. Rodríguez-Ángeles G. Principales características y diagnóstico de los grupos patógenos de *Escherichia coli*. *Salud pública Méx* [Internet]. 2002 Sep. [citado 15 Dic 2020]; 44(5): 464-475. Disponible en: [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0036-36342002000500011&lng=es](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0036-36342002000500011&lng=es)

27. Marcos-Carbajal P, Galarza-Pérez M, Huancahuire-Vega S, Otiniano-Trujillo M, Soto-Pastrana J. Comparación de los perfiles de resistencia antimicrobiana de *Escherichia coli* uropatógena e incidencia de la producción de betalactamasas de espectro extendido en tres establecimientos privados de salud de Perú. *Biomédica* [Internet]. 2020 May [citado 8 Dic 2020]; 40 (Supl. 1):139-47. Disponible en: <https://revistabiomedica.org/index.php/biomedica/article/view/4772>
28. Paz-Zarza VM, Mangwani-Mordani S, Martínez-Maldonado A, Álvarez-Hernández D, Solano-Gálvez SG, Vázquez-López R. *Pseudomonas aeruginosa*: patogenicidad y resistencia antimicrobiana en la infección urinaria. *Rev. Chile Infectol* [Internet]. 2019 abr [citado 8 Dic 2020]; 36(2): 180-189. Disponible en: [https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0716-10182019000200180&lng=es](https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182019000200180&lng=es). <http://dx.doi.org/10.4067/S0716-10182019000200180>.
29. Hernández A, Yagüe G, García E, Simón M, Moreno L, Canteras M & Gómez J. Infecciones nosocomiales por *Pseudomonas aeruginosa* multirresistente incluidos carbapenémicos: factores predictivos y pronósticos. Estudio prospectivo 2016 y 2017. *Rev Esp. Quimioter* [Internet]. 2018 abr. [citado 10 Dic 2020]; 31(2): 123–130. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6159385/>
30. Bravo Sánchez AV, Acuña Calle WD. Evaluación fitoquímica y determinación de flavonoides en hojas de *Ficus benjamina* L. *Xilema* [Internet]. 2015 [citado 15 Dic 2020]; 28(1):61–7. Disponible en: <http://revistas.lamolina.edu.pe/index.php/xiu/article/viewFile/599/582>
31. Abarca Vega E, Chávez Flores J. Actividad antiulcerosa del extracto etanólico de las hojas de *Ficus carica* L. (higo) en ratas [Internet]. Lima: Universidad Norbert Wiener; 2018 [citado 17 Dic 2020]. Disponible en: <http://repositorio.uwiener.edu.pe/handle/123456789/2201>
32. Sprenger L, Giese E, Santos J, Molento M. Atividade antimicrobiana do extrato hidroalcolico de *Ficus carica* e *Polygala spectabilis*. *Archives of Veterinary Science* [Internet]. 2017 [citado 11 Ene 2021]; 22(3): 1-7. Disponible en: <https://revistas.ufpr.br/veterinary/article/view/43464/34109>

33. Expósito Paret E, Díaz Cifuentes AM, Morales Morales M, Contreras Tejada JM, Varela Iraola S. Acción antimicrobiana in vitro de extractos hidroalcohólicos de frutos y hojas de la especie *Ficus carica* L. Rev. electron. Zoilo [Internet]. 2017 [citado 10 Ene 2021]; 42(4):[aprox. 0 p.]. Disponible en: <http://revzoilomarinaldo.sld.cu/index.php/zmv/article/view/1117>
34. Valdez LK, Palacios EW. Prácticas etnobotánicas odontológicas de la comunidad Kichwa Playas de Oro, Parroquia Santa Cecilia, Cantón Lago Agrio, Provincia de Sucumbíos [Internet]. Quito: Universidad Central del Ecuador; 2017 [citado 15 Dic 2020]. Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/9598>
35. Hernández R, Fernández C, Baptista M. Metodología de la investigación. 5a ed. México: Mc Graw-Hill Interamericana Editores S.A; 2010.
36. Guerrero Dávila G, Guerrero Dávila MC. Metodología de la investigación. Serie integral por competencias. 1.ª ed. México: Grupo Editorial Patria; 2014.
37. Berna CA, Metodología de la investigación. 3.ª ed. Colombia: Pearson Educación; 2010
38. Lock Sing de Ugaz O. Investigación fitoquímica : métodos en el estudio de productos naturales. 3.ª ed. Lima: Pontificia Universidad Católica del Perú. Departamento de Ciencias; 2016. 1-287 p.
39. Sacsquispe R, Velásquez J. Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco de difusión. Serie de normas técnicas N° 30. Lima: Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud; 2002.
40. Nwankwo IU, Ukaegbu-Obi K. Preliminary phytochemical screening and antibacterial activity of two Nigerian medicinal plants (*Ficus asperifolia* and *Terminalis catappa*). Journal of Medicinal Plant and Herbal Therapy Research [Internet]. 2014 Mar [citado 11 Ene 2021]; 2(1): 1-5. Disponible en: <http://www.bluepenjournals.org/jmpht/abstract/2014/March/Nwankwo%20and%20Ukaegbu-Obi.html>
41. Raisagar A, Deep Kaur Ch, Sawarkar H, Kumar L, Raisagar A, Karmakar A, Sahu M. Comparative study of wound-healing effect of bark extracts of *Ficus religiosa* & *Ficus benghalensis* by mice model. Journal of Pharmacognosy

- and Phytochemistry [Internet]. 2019 [citado 11 Ene 2021]; 8(2): 1815-1821. Disponible en: <https://www.phytojournal.com/archives/2019/vol8issue2/PartAD/8-2-123-862.pdf>
42. Chandra S, Saklani S. Isolation and Identification of Ficus Palmata Leaves and Their Antimicrobial Activities. Journal of Scientific Research [Internet]. 2017 abr. [citado 11 Ene 2021];9(2): 193. Disponible en: <https://doi.org/10.3329/jsr.v9i2.27806>
43. Balbuena Escalona V. Evaluación del efecto antimicrobiano de flavonoides obtenidos de extractos de hojas de Tamarindus indica Lin. Multimed [Internet]. 2012 [citado 11 Ene 2021]; 16(1): 1-23. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/multimed/mul-2012/mul121i.pdf> )
44. Aparecida F. Estudo do potencial antimutagênico, mutagênico, estrogênico e antibacteriano de flavonoides [Internet]. Araraquara: Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Farmacêuticas; 2011 [citado 17 Ene 2021]. Disponible en: [https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/104031/resende\\_fa\\_dr\\_arafcf.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/104031/resende_fa_dr_arafcf.pdf?sequence=1&isAllowed=y) )

## **ANEXOS**

**ANEXO A: Operacionalización de las variables.**

<b>Variables</b>	<b>Tipo de Variables</b>	<b>Definición Conceptual</b>	<b>Definición Operacional</b>	<b>Dimensiones</b>	<b>Indicadores</b>
Independiente: Extracto hidroalcohólico de corteza de <i>Ficus citrifolia</i> Mill.	Cuantitativa- Cualitativo	Producto obtenido luego de la maceración de las partes vegetales en alcohol al 70% por un periodo de tiempo, en este caso 10 días, pasado este tiempo se lleva a una estufa a 40°C para su concentración hasta que se elimine el solvente, guardándolo en un envase de vidrio color ámbar para su adecuada conservación y almacenamiento.	Concentración del extracto hidroalcohólico de corteza de <i>Ficus citrifolia</i> Mill.	Efecto Fitoquímico	20%, 40% y 60%  Presencia de grupos de metabolitos secundarios.
Dependiente: Actividad antibacteriana	Cuantitativo	Capacidad de una sustancia para inhibir el crecimiento y	Sensibilidad bacteriana frente al extracto hidroalcohólico de la corteza de <i>Ficus citrifolia</i>	Microbiológico	Medición de los halos de inhibición

frente a cepas de <i>Escherichia</i> <i>coli</i> ATCC 8739 y <i>Pseudomonas</i> <i>aeruginosa</i> ATCC 9027.		propagación de las bacterias en estudio.	Mill. obtenida por medición del diámetro de los halos de inhibición.		(mm).
--	--	---	--	--	-------



## ANEXO B: Tabla de resultados

Efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de <i>Ficus citrifolia</i> Mill. frente a <i>E. coli</i>													
	N°	Blanco	Con. 20 %	Control 1	Control 2	Blanco	Con. 40 %	Control 1	Control 2	Blanco	Con. 60 %	Control 1	Control 2
DIA 1	1	6.15	7.35	19.10	20.00	6.10	10.50	16.50	19.75	6.10	14.95	18.20	20.30
	2	6.10	7.45	18.40	19.75	6.15	10.75	17.10	19.90	6.00	15.05	17.50	19.45
	3	6.10	7.70	17.85	19.65	6.10	11.00	18.25	18.40	6.10	15.05	18.45	20.40
	4	6.10	7.80	17.80	19.50	6.10	10.60	18.70	21.00	6.10	14.90	19.10	20.80
	5	6.15	7.40	17.85	20.10	6.15	10.80	17.90	21.00	6.15	15.00	18.40	19.30
DIA 2	6	6.00	7.45	18.00	19.85	6.00	10.55	19.60	19.90	6.00	15.00	18.70	20.00
	7	6.10	7.60	18.55	19.75	6.10	10.65	19.25	19.45	6.05	15.10	19.45	18.60
	8	6.00	7.75	19.55	19.55	6.00	10.15	19.40	20.45	6.00	15.10	19.55	20.20
	9	6.10	7.75	19.00	18.90	6.05	10.75	19.90	20.50	6.15	15.00	18.50	19.30
	10	6.10	7.55	18.45	18.95	6.10	10.45	18.50	18.40	6.00	14.90	19.10	19.40

Efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de <i>Ficus citrifolia</i> Mill. frente a <i>P. aeruginosa</i>													
	N°	Blanco	Con. 20 %	Control 1	Control 2	Blanco	Con. 40 %	Control 1	Control 2	Blanco	Con. 60 %	Control 1	Control 2
DIA 1	1	6.05	6.85	10.20	16.50	6.10	8.20	10.00	17.90	6.10	10.90	11.90	17.60
	2	6.05	7.15	11.30	17.25	6.00	8.90	11.15	16.40	6.10	10.35	10.50	16.45
	3	6.05	6.90	12.10	16.40	6.10	8.10	11.90	16.45	6.15	11.15	11.25	17.20
	4	6.10	6.50	12.60	17.70	6.05	8.25	11.85	17.70	6.10	10.20	11.30	17.70
	5	6.10	7.05	12.25	16.55	6.10	7.50	12.10	17.30	6.10	10.40	11.70	16.60
DIA 2	6	6.00	6.65	11.35	16.85	6.00	8.15	12.05	16.20	6.05	10.55	12.00	17.05
	7	6.10	7.10	11.10	17.20	6.10	8.35	11.10	16.30	6.10	10.60	11.40	17.30
	8	6.00	6.85	12.20	17.90	6.00	9.25	11.85	16.85	6.00	10.10	11.65	16.20
	9	6.05	7.21	11.30	16.45	6.10	8.30	11.50	16.55	6.05	11.15	10.10	16.45
	10	6.00	7.10	11.90	17.05	6.05	8.95	12.25	18.00	6.00	10.45	11.50	16.90

## ANEXO C. INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS

**TABLA 1: Prueba de solubilidad del extracto hidroalcohólico de corteza de *Ficus citrifolia* Mill.**

Solventes	Resultado
Cloroformo	-
Éter de petróleo	-
Etanol	+
Metanol	++
Agua destilada	+++
n-hexano	-

**Fuente: Elaboración propia.**

**Leyenda:**

- No soluble o insoluble (-)
- Poco soluble (+)
- Mediana o moderadamente soluble (++)
- Completamente soluble (+++)

**TABLA 2: Marcha fitoquímica del extracto hidroalcohólico de corteza de *Ficus citrifolia* Mill.**

<b>Metabolitos Secundarios</b>	<b>Reactivo De Identificación</b>	<b>Resultado</b>	<b>Comentario</b>
<b>Alcaloides</b>	<b>Mayer</b>		
	<b>Wagner</b>		
	<b>Dragendorff</b>		
	<b>Scheibler</b>		
	<b>Sonneschein</b>		
	<b>Reineckato</b>		
<b>Compuestos Fenólicos y Flavonoides</b>	<b>Shinoda</b>		
	<b>Cloruro férrico</b>		
	<b>Gelatina al 1%</b>		
	<b>Bortranger</b>		
<b>Aminoácidos</b>	<b>Ninhidrina</b>		
<b>Camarinas</b>	<b>Hidróxido de Sodio al 1%</b>		
<b>Antraquinonas</b>	<b>Reacción de Bortranger</b>		

<b>Metabolitos Primarios</b>	<b>Reactivo de Identificación</b>	<b>Resultado</b>	<b>Comentario</b>
<b>Glúcidos</b>	<b>Fehling A y B</b>		
<b>Almidón</b>	<b>Lugol</b>		
<b>Cetonas</b>	<b>2,4 DNPH</b>		

**Fuente: Elaboración propia**

**Leyenda:**

- (-) La coloración o precipitado no se evidencia
- (+) La coloración o precipitado se evidencia poco
- (++) La coloración o precipitado se evidencia moderadamente
- (+++) La coloración o precipitado se evidencia notablemente

**TABLA 3: Resultados promedio de las mediciones de los halos de inhibición (mm) del extracto hidroalcohólico de corteza de *Ficus citrifolia* Mill.**

Cepa bacteriana	N°	Blanco	Con. 20 %	Con. 40 %	Con. 60 %	Amoxicilina	Azitromicina
<i>E. coli</i> ATCC 8739	1						
	2						
	3						
	4						
	5						
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 9027	1						
	2						
	3						
	4						
	5						


**Fuente: Elaboración propia.**

**LEYENDA:** Escala interpretativa Duraffourd y Lapraz (1983)

- (-) Nula: Diámetro (< 8 mm)
- (+) Sensible bajo: Diámetro (8 - 14 mm)
- (++) Medio (muy sensible): Diámetro (14 - 20 mm)
- (+++) Sumamente sensible: Diámetro (> 20 mm)

- **Blanco: B**
- **Controles positivos:**
  - **Control 1 (C1):** Amoxicilina
  - **Control 2 (C2):** Azitromicina

**ANEXO D: Constancia de Identificación Taxonómica**



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

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

**CONSTANCIA N° 320-USM-2019**

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

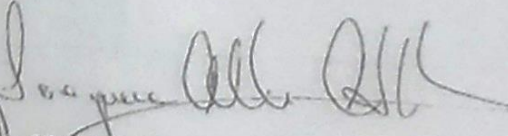
La muestra vegetal (planta completa) recibida de **TANIA ÑAÑEZ CHAMPI** y **POLET OSORIO VIVAS**, estudiantes de la Universidad Inca Garcilaso de la Vega, ha sido estudiada y clasificada como: ***Ficus citrifolia* Mill** tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988).


**DIVISION: MAGNOLIOPHYTA**  
**CLASE: MAGNOLIOPSIDA**  
**SUBCLASE: ROSIDAE**  
**ORDEN: ROSALES**  
**FAMILIA: MORACEAE**  
**GENERO: *Ficus***  
**ESPECIE: *Ficus citrifolia* Mill**

Nombre Vulgar: Higuierón  
Determinado por: Mag. María Isabel La Torre Acuy

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

Lima, 01 de octubre de 2019

  
**Dra. JOAQUINA ALBAN CASTILLO**  
JEFA (e) DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)



MAC/ddb

**ANEXO E: Certificados de Placas Petri**



**Certificate of Conformity**

This is to certify that,

Biologix is the manufacturer of the following product:

66-1501 Petri dishes 90 x 15mm Petri Dish with vented lid,  
Sterile,500pieces/case

1) Our quality System has been found to conform to the Quality System  
Standard ISO 9001:2008

2) The products listed below are EO sterilized. The products are sterile if  
package integrity is not compromised.

66-1501 Petri dishes 90 x 15mm Petri Dish with vented lid,  
Sterile,500pieces/case

Lot# JJ0974Z1550

Certification Date :2017-5-6



A handwritten signature in black ink, appearing to read "Audithi".

Authorized Signature \_\_\_\_\_

Tel: +86-531-67802668

Fax: +86-531-67803768

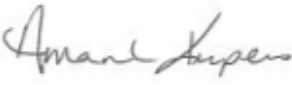
www.BiologixGroup.com

**ANEXO F: Certificado de *Escherichia coli* ATCC 8739**



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

<b>Specifications</b> Microorganism Name: <i>Escherichia coli</i> Catalog Number: 0483 Lot Number: 483-898** Reference Number: ATCC® 8739™* Purity: Pure Passage from Reference: 2	<b>Expiration Date:</b> 2021/1/31 <b>Release Information:</b> Quality Control Technologist: Kieshia L Negen Release Date: 2019/2/21
--	--

<b>Performance</b>	
<b>Macroscopic Features:</b> Medium to large, gray, mucoid, convex. <b>Microscopic Features:</b> Gram negative straight rod.	<b>Medium:</b> SBAP <b>Method:</b> Gram Stain (1)
<b>ID System: MALDI-TOF (1)</b> See attached ID System results document.	<b>Other Features/ Challenges: Results</b> (1) Oxidase (Kovacs): negative Beta-glucuronidase (E. coli Broth w/MUG): positive  <div style="text-align: center;">                       Amanda Kuperus                      Quality Control Manager                      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.

Note for Vitek®: Although the Vitek® panel uses many conventional tests, the unique environment of the card, combined with the short incubation period, may produce results that differ from published results obtained by other methods.

⚠ Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and 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 17025:2005.





**Bruker Daltonik MALDI Biotyper Classification Results**



**Meaning of Score Values**

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

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

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

Sample Name: Escherichia coli  
 Sample Description: 0483  
 Sample ID: 483-898  
 Sample Creation Date/Time: 2019-02-19T12:06:20.576klm  
 Applied MSP Library(ies): BDAL, Mycobacteria Library (bead method), Filamentous Fungi Library, Listeria

Sample Name	Sample ID	Organism (best match)	Score Value
H3 (+++) (A)	483-898	Escherichia coli	2.63

Comments:

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

# ANEXO G: Certificado de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

<b>Specifications</b> <b>Microorganism Name:</b> Pseudomonas aeruginosa <b>Catalog Number:</b> 0484 <b>Lot Number:</b> 484-1263** <b>Reference Number:</b> ATCC® 9027™** <b>Purity:</b> Pure <b>Passage from Reference:</b> 2	<b>Expiration Date:</b> 2022/6/30 <b>Release Information:</b> <b>Quality Control Technologist:</b> Kavitha Gobalan <b>Release Date:</b> 2020/7/10
---	--

Performance	
<b>Macroscopic Features:</b> Large, flat, circular to irregular shaped, gray with silver sheen. A second SBAP colony type may also be present as small, round, shiny colonies.	<b>Medium:</b> SBAP
<b>Microscopic Features:</b> Straight or slightly curved gram negative rod.	<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): positive Motility (Wet Mount): positive Pseudomonas P Agar: positive (blue-green color diffusing into the agar) Growth at 42 C: positive

Amanda Kuperus  
 Quality Control Manager  
 AUTHORIZED SIGNATURE

\*\*Disclaimer: The last digit(s) of the lot number appearing on the product label and packing slip are merely a packaging event number. The lot number displayed on this certificate is the actual base lot number.

Note for Vitek®: Although the Vitek® panel uses many conventional tests, the unique environment of the card, combined with the short incubation period, may produce results that differ from published results obtained by other methods.

Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and 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 17025:2005.



## 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: 2020-07-09T13:28:55.213 KG

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

Sample Name	Sample ID	Organism (best match)	Score Value
A4 (+++) (A)	484-1263	Pseudomonas aeruginosa	2.38

Comments:

n/a
-----

## ANEXO H: Evidencias fotográficas del trabajo de campo.

### PRUEBA DE SOLUBILIDAD



Figura 1. Prueba de Solubilidad.



Figura 2. Reactivos para la Prueba de Solubilidad.

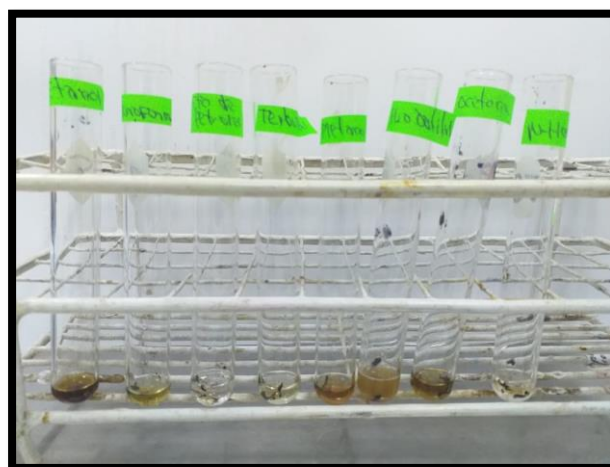


Figura 3. Resultados de la Prueba de Solubilidad.

## TAMIZAJE FITOQUÍMICO



Figura 4. Reactivos para el Tamizaje Fitoquímico (parte I)



Figura 5. Reactivos para el Tamizaje Fitoquímico (parte II)

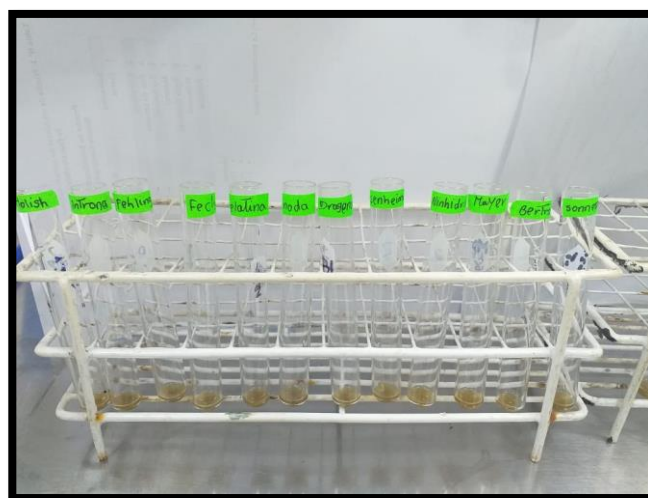
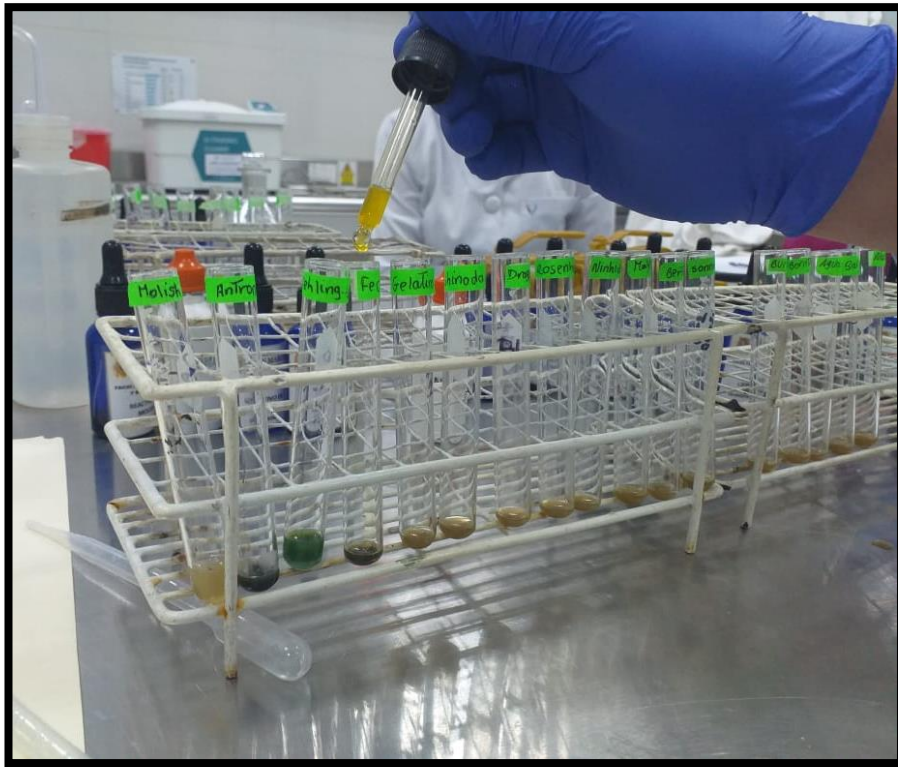
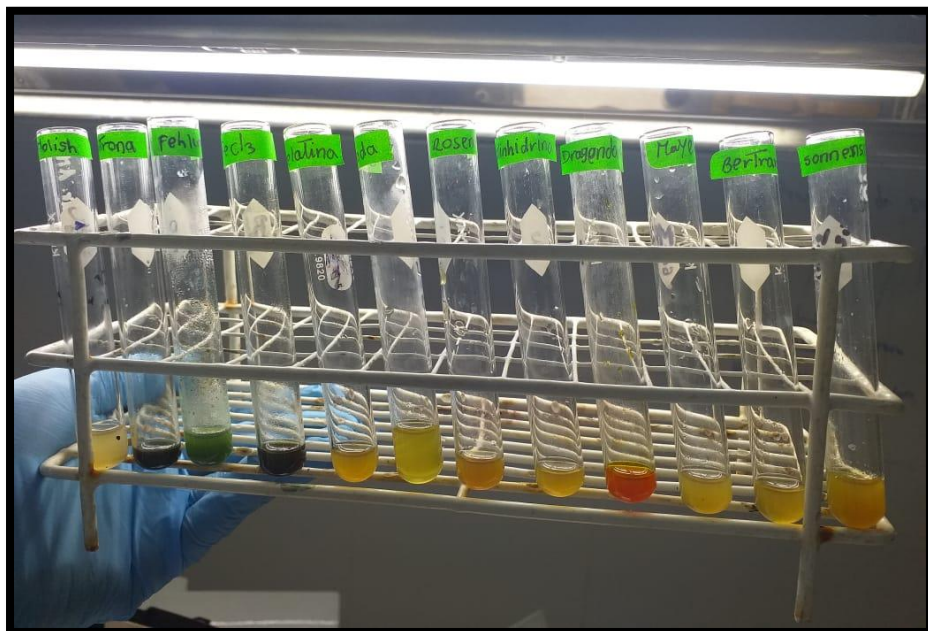


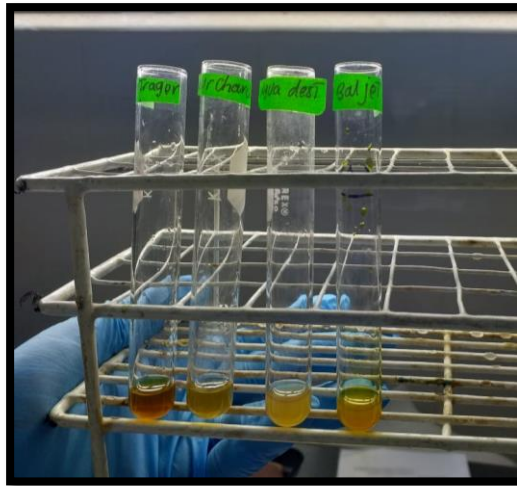
Figura 6. Preparación de tubos de ensayo para el Tamizaje Fitoquímico.



**Figura 7.** Adición de Reactivos para el Tamizaje Fitoquímico.



**Figura 8.** Resultados del Tamizaje Fitoquímico (parte I)



**Figura 9.** Resultados del Tamizaje Fitoquímico (parte II).

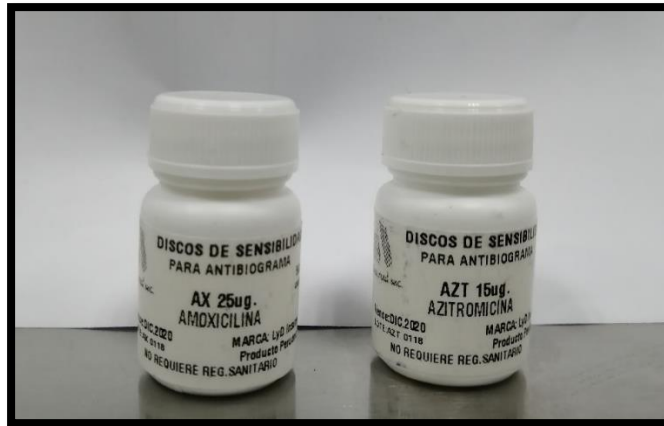
### **ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA**



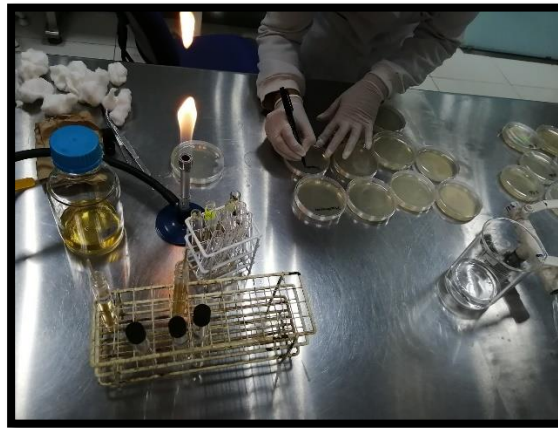
**Figura 10.** Preparación del medio de cultivo agar Mueller Hinton



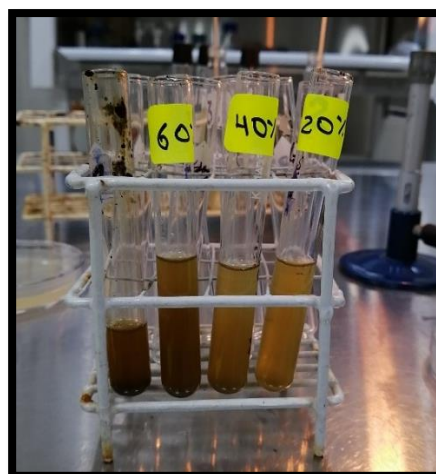
**Figura 11.** Placas de Agar Mueller Hinton.



**Figura 12.** Discos de Sensibilidad de los Controles Positivos.



**Figura 13.** Rotulado de las Placas de Agar Mueller Hinton

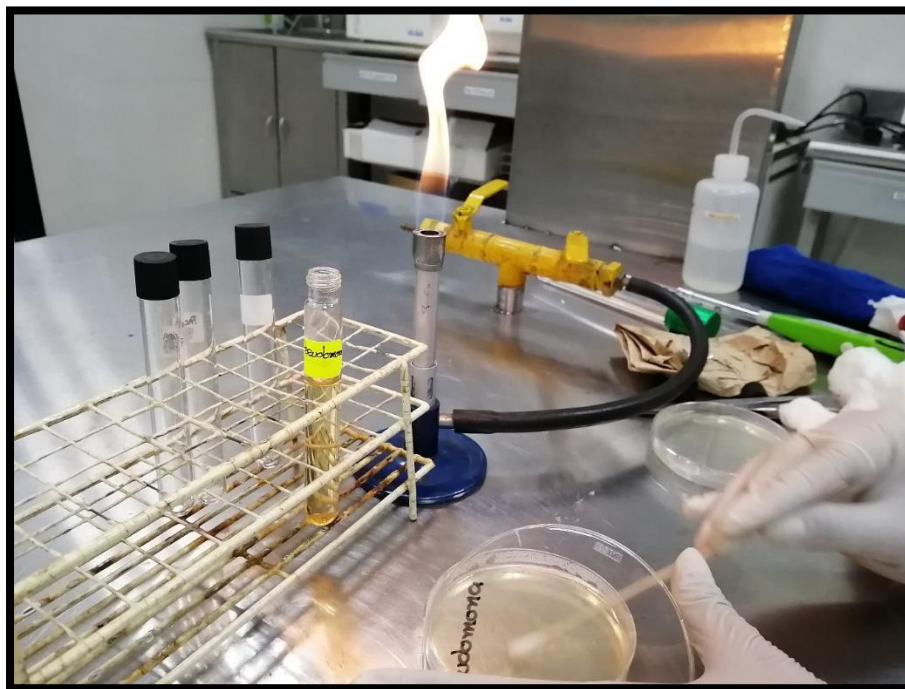


**Figura 14.** Concentración del extracto hidroalcohólico de corteza de *Ficus citrifolia* Mill. al 20%, 40% y 60%.





**Figura 15.** Siembra de las cepas de *Escherichia coli* ATCC 8739 con un hisopo estéril en las placas de Agar Mueller Hinton.



**Figura 16.** Cepas de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 con un hisopo estéril en las placas de Agar Mueller Hinton.



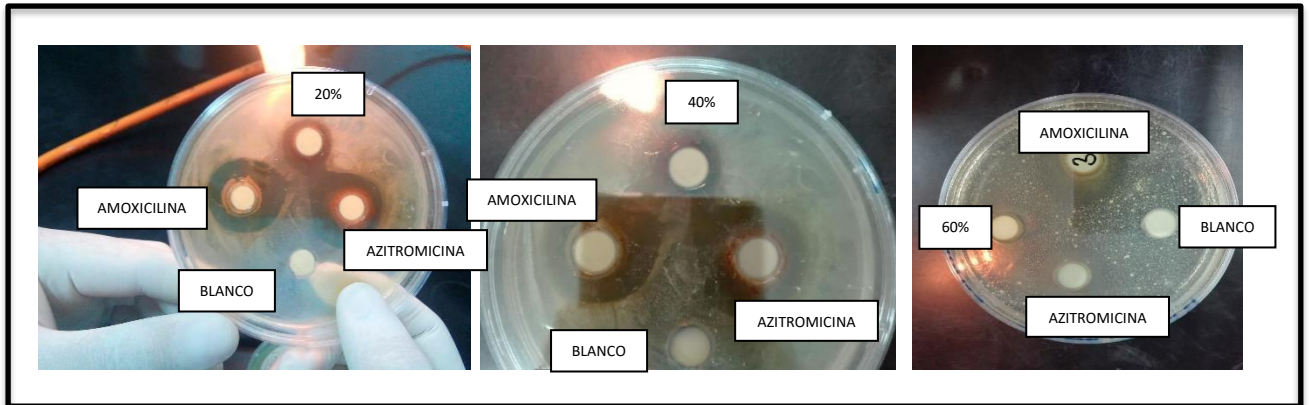
**Figura 17.** Incubación de las placas a 37 °C por el periodo de 24 y 48 hrs.

### **MEDICION DE HALOS INHIBICIÓN**

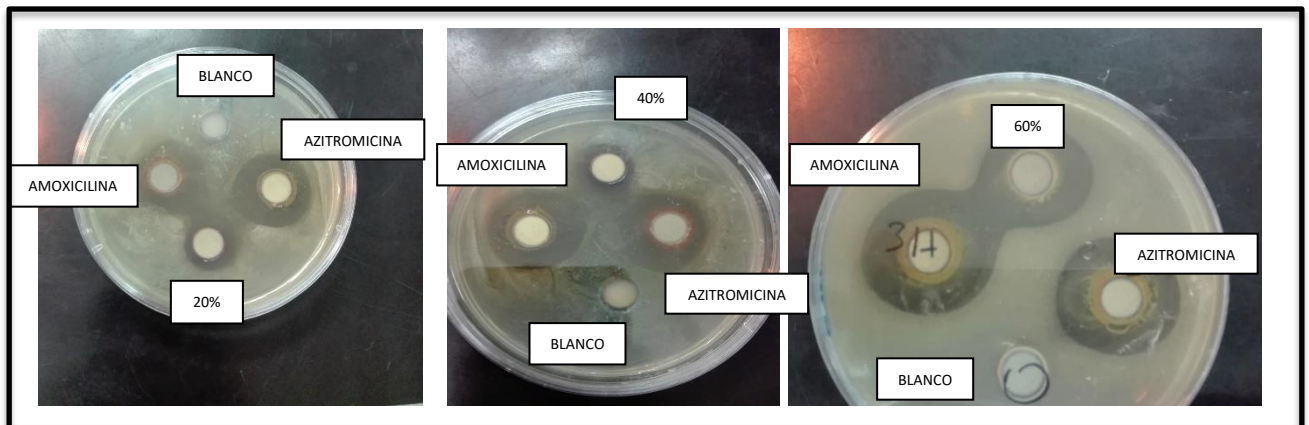


**Figura 18.** Medición de los halos de inhibición obtenidos.

## HALOS DE INHIBICIÓN



**Figura 19.** Halos de inhibición obtenidos del extracto hidroalcohólico de corteza de *Ficus citrifolia* Mill. al 20%, 40% y 60% (respectivamente) frente a cepas *Escherichia coli* ATCC 8739.



**Figura 20.** Halos de Inhibición obtenidos del extracto hidroalcohólico de corteza de *Ficus citrifolia* Mill. al 20%, 60% y 40% (respectivamente) frente a cepas de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027.

**ANEXO I. MATRIZ DE CONSISTENCIA: ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE CORTEZA DE *Ficus citrifolia* Mill. FRENTE A CEPAS DE *Escherichia coli* ATCC 8739 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC**

**9027**

PROBLEMA GENERAL	OBJETIVOS GENERAL	HIPÓTESIS GENERAL	OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES			METODOLOGÍA
¿El extracto hidroalcohólico de corteza de <i>Ficus citrifolia</i> Mill. al 20%, 40% y 60% presentará actividad antibacteriana frente a cepas de <i>Escherichia coli</i> ATCC 8739 y <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027?	Evaluar la actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico de corteza de <i>Ficus citrifolia</i> Mill. al 20%, 40% y 60% frente a cepas de <i>Escherichia coli</i> ATCC 8739 y <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027.	El extracto hidroalcohólico de corteza de <i>Ficus citrifolia</i> Mill. al 20%, 40% y 60% presenta actividad antibacteriana frente a cepas de <i>Escherichia coli</i> ATCC 8739 y <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027.	<b>V1 INDEPENDIENTE</b>	<b>DIMENSIÓN</b>	<b>INDICADORES</b>	<b>I. TIPO DE INVESTIGACIÓN:</b> <b>ENFOQUE:</b> Cuantitativo.  <b>II. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN:</b> Estudio de tipo Experimental, Transversal y Explicativo.  <b>III. POBLACIÓN Y MUESTRA DE LA INVESTIGACIÓN:</b> -Población vegetal: Plantas de <i>Ficus citrifolia</i> Mill. -Muestra vegetal: 1 kg de corteza de <i>Ficus citrifolia</i> Mill.
			Extracto hidroalcohólico de corteza de <i>Ficus citrifolia</i> Mill.	Efecto Fitoquímico	Presencia de grupos de metabolitos secundarios.	
PROBLEMAS ESPECÍFICOS	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	HIPÓTESIS ESPECÍFICAS	<b>V2 DEPENDIENTE</b>	<b>DIMENSIÓN</b>	<b>INDICADORES</b>	
-¿Qué tipo de metabolitos secundarios con actividad antibacteriana poseerá el extracto hidroalcohólico de corteza de <i>Ficus citrifolia</i> Mill.?	Determinar los tipos de metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de corteza de <i>Ficus citrifolia</i> Mill.	-El extracto hidroalcohólico de corteza de <i>Ficus citrifolia</i> Mill. posee metabolitos secundarios con actividad antibacteriana.				

<p>- ¿A qué concentración del extracto hidroalcohólico de corteza de <i>Ficus citrifolia</i> Mill. presentará mayor efecto inhibitorio frente a cepas de <i>Escherichia coli</i> ATCC 8739 y <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027?</p> <p>- ¿Cuál será la susceptibilidad antibacteriana de las cepas de <i>Escherichia coli</i> ATCC 8739 y <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027 frente al extracto hidroalcohólico de corteza de <i>Ficus citrifolia</i> Mill. al 20%, 40% y 60% comparados con una Penicilina y un Macrólido?</p>	<p>-Determinar a qué concentración del extracto hidroalcohólico de corteza de <i>Ficus citrifolia</i> Mill. presentará mayor efecto inhibitorio frente a cepas de <i>Escherichia coli</i> ATCC 8739 y <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027.</p> <p>-Evaluar la susceptibilidad antibacteriana de las cepas de <i>Escherichia coli</i> ATCC 8739 y <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027 frente al extracto hidroalcohólico de corteza de <i>Ficus citrifolia</i> Mill. al 20%, 40% y 60% comparados con una Penicilina y un Macrólido.</p>	<p>-El extracto hidroalcohólico de la corteza de <i>Ficus citrifolia</i> Mill. posee efecto inhibitorio a mayor concentración frente a cepas <i>Escherichia coli</i> ATCC 8739 y <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027.</p> <p>-La susceptibilidad antibacteriana de las cepas de <i>Escherichia coli</i> ATCC 8739 y de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027 frente al extracto hidroalcohólico de la corteza de <i>Ficus citrifolia</i> Mill. al 20%, 40% y 60% presenta mejor porcentaje de inhibición en comparación con una Penicilina y un Macrólido.</p>	<p>Actividad antibacteriana frente a cepas de <i>Escherichia coli</i> ATCC 8739 y <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027.</p>	<p>Microbiológico.</p>	<p>Medición de los halos de inhibición (mm).</p>	<p>-Población microbiológica: microorganismos bacterianos de cepas de <i>Escherichia coli</i> y <i>Pseudomonas aeruginosa</i>.</p> <p>-Muestra microbiológica: las cepas estandarizadas de <i>Escherichia coli</i> ATCC 8739 y <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027.</p> <p>IV. TÉCNICA DE PROCESAMIENTO DE RESULTADOS: Tabla y gráficos analizados por el programa estadístico (SPSS) en la versión que se tenga disponible</p>
--	---	--	--	------------------------	--	---