



FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

**EFFECTO ANTIBACTERIANO *IN VITRO* DE LA RESINA DE
Bertholletia excelsa (castaña) FRENTE A LA CEPA DE
Staphylococcus epidermidis ATCC 14990**

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

AUTORES

BACH. PARILLO MAMANI, DAVID ALONSO

<https://orcid.org/0000-0002-9684-3170>

BACH. LUZA LEIVA, JUAN DANIEL

<https://orcid.org/0000-0002-4928-7511>

ASESOR

Dr. VILCHEZ CACEDA, HECTOR ALEXANDER

<https://orcid.org/0000-0001-7094-0821>

LIMA – PERÚ

2022

DEDICATORIA

En primer lugar a Dios por permitirme llegar hasta estos momentos, a mi madre, a mi hermano, a toda mi familia y a mi pareja por ayudarme y apoyarme en cada etapa de mi formación personal y profesional.

Juan Daniel Luza Leiva

A mis padres por haberme forjado como la persona que soy en la actualidad, muchos de mis logros se los debo a ustedes entre los que se incluye este. Me formaron con reglas y con algunas libertades, pero al final de cuentas, me motivaron constantemente para alcanzar mis sueños y metas.

Gracias madre y padre.

David Alonso Parillo Mamani

AGRADECIMIENTO

A Dios, por brindarnos la fortaleza y dedicación durante nuestra trayectoria en la universidad y concedernos la oportunidad de culminar esta grandísima carrera.

Gracias a nuestros familiares y asesores, por sus consejos y apoyo para la elaboración de esta tesis.

Índice General

	Páginas
Resumen	7
Abstract	8
I. INTRODUCCIÓN	9
II. MATERIALES Y MÉTODOS	15
2.1 Enfoque y diseño de la investigación	15
2.2 Población, muestra y muestreo	15
2.3 Variables de investigación	16
2.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos	17
2.5 Proceso de recolección de datos	17
2.6 Métodos de análisis estadístico	19
2.7 Aspectos éticos	20
III. RESULTADOS	20
IV. DISCUSIÓN	26
4.1 Discusión de resultados	26
4.2 Conclusiones	27
4.3 Recomendaciones	28
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	29

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Solubilidades de la resina.	20
Tabla 2. Marcha fitoquímica de la resina de <i>Bertholletia excelsa</i> (castaña).	22
Tabla 3. Resultado del análisis in vitro por el método Kirby-Bauer a una concentración de 25 %.	23
Tabla 4. Resultado del análisis in vitro por el método Kirby-Bauer a una concentración de 50 %.	24
Tabla 5. Resultado del análisis in vitro por el método Kirby-Bauer a una concentración de 75 %.	25
Tabla 6. Resultado del análisis in vitro por el método Kirby-Bauer control positivo.	26
Tabla 7. Resultado del análisis in vitro por el método Kirby-Bauer control negativo.	26
Tabla 8. Análisis de varianza Anova.	27
Tabla 9. Análisis Tukey HSD para comparaciones múltiples.	28
Tabla 10. Análisis Tukey para comparaciones múltiples por subgrupos.	29
Tabla 11. Escala Duraffourd de resina de <i>Bertholletia excelsa</i> (castaña) frente a <i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 14990	30

ÍNDICE DE FIGURA

Figura 1. Especie vegetal.	13
Figura 2 : Foto extracción de la resina y corteza.	46
Figura 3: Desinfección de la corteza para extracción de la resina <i>Bertholletia excelsa</i> .	46
Figura 4: Foto de corteza picada y luego en baño maría embebido en etanol al 96 %.	48
Figura 5: Foto del filtrado de resina de <i>Bertholletia excelsa</i> y posteriormente se coloca en la estufa a 40 grados por 24 horas.	48
Figura 6: Obtención de la resina en melcocha.	48
Figura 7: Reactivos para la marcha fitoquímica junto a sus resultados.	49
Figura 8 : Solventes para la prueba de solubilidad y sus respectivos resultados.	50
Figura 9 : Producto terminado la resina al 25 %, 50 %y 75 %	50
Figura 10 : Preparación del medio del cultivo.	51
Figura 11 : Foto de esterilización de material e inoculado del medio en las placas petri.	51
Figura 12 : Foto siembra de cepa y después se traslada a la incubadora a 37°C por 24 horas.	51
Figura 13 : Foto en donde se realiza rotulado de la placas petri y el debido sembrado del papel Whatman con resina de castaña.	51
Figura 14: Foto en donde se está realizando las respectivas lectura de los halos de inhibición de las placas petri.	52
Figura 15: Foto en donde se aprecia los diámetros de la resina al 75 %	52

INDICE DE ANEXOS

Anexo A. Operacionalización de la variable.	36
Anexo B. Instrumento de recolección de datos.	37
Anexo C. Certificado de Identificación Taxonómica.	38
Anexo D. Certificado de la marcha fitoquímica de la resina de <i>Bertholletia excelsa</i> (castaña).	40
Anexo E. Certificado de análisis de la cepa <i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 14990.	41
Anexo F. Constancia de participación en elaboración de la resina de <i>Bertholletia excelsa</i> (castaña).	42
Anexo G. Constancia de práctica en el laboratorio microbiológico.	43
Anexo H. Evidencias fotográficas.	44

RESUMEN

Objetivo: Identificar los metabolitos presentes en la resina de *Bertholletia excelsa* (castaña) y determinar a qué concentración presentó efecto antibacteriano sobre la cepa de *Staphylococcus epidermidis* ATCC 14990, comparándolo con los efectos de la Cefalexina.

Métodos: Se procedió a la extracción de la resina de *Bertholletia excelsa* (castaña) para posteriormente realizar la marcha fitoquímica y se evaluó el efecto antibacteriano a diferentes concentraciones utilizando el método de difusión (KIRBY BAUER) con disco embebidos con la resina a concentraciones de 25 %, 50 %, 75 % sobre la cepa de *Staphylococcus epidermidis* ATCC 14990, se realizó 18 repeticiones por cada concentración donde se empleó la cefalexina como control positivo, posteriormente se realizó la lectura de los halos a las 24 horas después de la incubación.

Resultado: La resina de *Bertholletia excelsa* (castaña) presentó efecto antibacteriano sobre la cepa en estudio. La resina *Bertholletia excelsa* (castaña) a la concentración de 75 % presentó un halo de inhibición de 19,35 mm, la concentración al 50 % nos dio halos de 17,50 mm y a la concentración al 25 % presentó halos de 16,15 mm.

Conclusiones: Se concluye que la resina de *Bertholletia excelsa* (castaña) presenta efecto antibacteriano frente a la cepa de *Staphylococcus epidermidis* ATCC 14990.

Palabras claves: *Bertholletia excelsa*, efecto antibacteriano, *Staphylococcus epidermidis*, cefalexina, bacitracina.

ABSTRACT

Objective: Identify the metabolites present in the resin of *Bertholletia excelsa* (chestnut) and determine at what concentration it had an antibacterial effect on the *Staphylococcus epidermidis* strain ATCC 14990, comparing it with the effects of Cephalexin.

Methods: The resin of *Bertholletia excelsa* (chestnut) was extracted to later carry out the phytochemical march and the antibacterial effect was evaluated at different concentrations using the diffusion method (KIRBY BAUER) with discs soaked with the resin at concentrations of 25%, 50%, 75% on the *Staphylococcus epidermidis* strain ATCC 14990, 18 repetitions were performed for each concentration cephalixin were used as positive control, then the halos were read at 24 hours after incubation.

Results: The resin of *Bertholletia excelsa* (chestnut) presented antibacterial effects on the strain under study. The *Bertholletia excelsa* resin (chestnut) at the 75 % concentration presented an inhibition halo of 19,35 mm, the 50 % concentration gave us halos of 17,50 mm and at the 25 % concentration it presented halos of 16,15 mm. Appreciating that the 75 % resin presented a greater diameter in the inhibition halos.

Conclusions: it is concluded that the resin of *Bertholletia excelsa* (chestnut) has an antibacterial effect against the strain of *Staphylococcus epidermidis* ATCC 14990.

Keywords: *Bertholletia excelsa*, antibacterial effect, *Staphylococcus epidermidis*, cephalixin, bacitracin.

I. INTRODUCCIÓN

La piel cumple una función esencial en el cuerpo porque actúa como una barrera, regulando la interacción entre el medio interno y el medio externo, evitando la pérdida de constituyentes corporales y limitando el acceso a partículas perjudiciales o dañinas a partir del medio ambiente ¹.

Este órgano se mantiene habitado por microorganismos que viven alimentándose de células muertas que se encuentran en la dermis, los cuales en algunas circunstancias tienden a originar enfermedades. La flora dérmica está constituida por parásitos, hongos y bacterias, el cual se divide en dos voluminosos conjuntos la flora residente y la flora transitoria. La diferencia entre estas dos floras dérmicas es que las residentes tienen las habilidades de multiplicarse, adaptarse y sobrevivir en el área cutánea, sin embargo, las transitoria comprenderá a todos los microorganismos que solo son trasladados del ecosistema sin tener la habilidad de permanecer en la dermis ².

La flora residente se divide en dos conjuntos bacterianos, uno mayor, conformado por microorganismos *Corineformes* y por *Staphylococcus*, y otro menor como los micrococos y acinetobacter; también está presente la flora micótica de la familia de pitiriasis versicolor y flora helmíntica demodex ¹.

La familia de los *Staphylococcus* se caracteriza por ser grampositivos, aerobios. Se han estudiado más de 30 especies, pero solo 10 tienen intervención epidérmica, entre esto tenemos a los *Staphylococcus coagulasa negativos* como *Staphylococcus epidermidis* ATCC 14990. ¹⁻² Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) dice que no es una patología la resistencia a los antimicrobianos. Sin embargo, hay una similitud en las infecciones entre las cepas sensibles y las cepas resistentes ³. Sin embargo, en España, en las unidades de cuidados intensivos, son preocupantes la resistencia de *Staphylococcus epidermidis* a linezolid (20,9%) y de *Enterococcus faecium* a daptomicina (10,5%). El primer aislamiento de *Staphylococcus* resistente a la meticilina (MRSA) fue descrito en Inglaterra en 1961, y se consideró como un patógeno asociado a los cuidados de salud. Posteriormente, en 1963, se reportó el primer brote epidémico de MRSA nosocomial. En 1997 se describe en Japón la primera cepa de *S. aureus* con resistencia intermedia a la vancomicina (VISA o GISA), y en el año 2002 aparece en Estados Unidos la primera cepa resistente a la vancomicina (VRSA)³.

Hoy en día la limitación de las alternativas terapéuticas suele ser un conflicto en el origen de nuevas enfermedades, ocasionando que en los últimos años el estudio por las especies vegetales aumente de forma considerable en todo mundo ³.

La causa principal es que necesitamos de los antimicrobianos para hacerle frente a las epidemias. Si tuviéramos un sistema rotatorio para tratarlos, la resistencia a los antimicrobianos se mantendría, pero dejaría de ser imprescindible como problema en la sanidad pública ³.

En nuestro país, la cepa de *Staphylococcus epidermidis* ATCC 14990 ha aumentado considerablemente en las infecciones intrahospitalarias, la fortaleza a los antibióticos se ve reflejada mediante la síntesis de enzimas que protegen a dicha bacteria de los betalactámicos. Asimismo, esta cepa acostumbra a ser resistente a macrólidos, lincosamidas, aminoglucósidos y fluoroquinolonas ⁴⁻⁵. Los costos relacionados con infecciones del torrente sanguíneo relacionadas con catéteres vasculares causadas por *Staphylococcus epidermidis* ATCC 14990 tienen una cantidad estimada de 2 mil millones al año en los Estados Unidos solamente ⁶.

La región de Madre de Dios tiene a su alcance posibles alternativas que podrían suplantar la utilización de medicamentos frente a diversas enfermedades. Una de estas alternativas sería la castaña que representa un aporte socioeconómico sostenible gracias a la recolección de sus frutos, pero que no se tiene conciencia de las otras bondades que esta planta posee en la salud. En nuestro país muchas de estas plantas carecen de estudios de investigación que sustenten científicamente sus propiedades curativas, por esto es necesario desarrollar estudios de las distintas especies vegetales, para determinar los compuestos que brindan los rasgos curativos.

La cepa de *Staphylococcus epidermidis* acostumbra a influenciar en la salud latente de las personas debido a que es una cepa ventajista y puede llegar a ser complicada de tratar, causando inmunidad a antibióticos prescritos por los médicos ⁶.

Hay varios fármacos como la Bacitracina 0.04 U y la Cefalexina 30 ug, El trabajo se enfoca en el análisis del impacto antibacteriano de la resina de *Bertholletia Excelsa* ante la cepa de *Staphylococcus epidermidis* ATCC 14990 y equiparar con los

fármacos previamente mencionados. Los responsables de los efectos biológicos, antibacteriales, antivirales y antiinflamatorias se encuentran como metabolitos primarios o secundarios en diversas especies vegetales. Los usos tradicionales de la especie *Bertholletia Excelsa* (castaña) que se conocen son:

- Como regenerador, dérmico de 2 a 3 veces al día.
- Para combatir las enfermedades hepáticas se emplea en infusión hervida la capa externa del árbol de castaña
- La capa externa cocida tiene un efecto antigotoso, desinflamante ⁷.

La siguiente investigación se basó en los siguientes antecedentes de investigación y son los siguientes:



Figura 1. *Bertholletia Excelsa* (castaña)

A continuación, se evidencian los siguientes antecedentes del presente estudio:

Fontoura B. et al (2021) optimizaron las condiciones de extracción de compuestos fenólicos con actividad antioxidante y antimicrobiana de cortezas de *Bertholletia excelsa*. En los resultados identificaron la presencia de compuestos fenólicos, terpenos y alcaloides asimismo respecto al análisis microbiológico, no presenta actividad frente a *Staphylococcus aureus* y *Salmonella enterica Typhimurium* a concentraciones de 4 y 2 mg/mL⁸.

Ibiapina A. et al (2021) evaluaron las propiedades y aplicaciones de los aceites de pupunha (*Bactris gasipaes*), el buriti (*Mauritia flexuosa*), la castaña (*Bertholletia excelsa*), el pracaxi (*Pentaclethra macroloba*). En los resultados identificaron que los aceites esenciales de estas especies de semillas oleaginosas tienen propiedades antibióticas y antiinflamatorias, además de la presencia de antioxidantes naturales,

como carotenoides y tocoferoles. Por lo tanto, las especies de semillas oleaginosas amazónicas son recursos valiosos con aplicaciones biológicas⁹.

Sangama D. (2020) estudió la composición química y evaluó la actividad antiplasmódica *in vitro* de extractos y sustancias de *Bertholletia excelsa*, mediante un estudio bioguiado. En los resultados se evidencio que el extracto obtenido de la corteza de *B. excelsa* en la mezcla acetona/etanol/agua (E56) fue el más activo (1,7 µg /mL) con actividad antiplasmódica (IC50 = 2,08 - 9,47 µM)¹⁰.

Pereira N. et al (2019) realizaron una revisión bibliográfica que describa el potencial biotecnológico de los aceites de *Carapa guianensis*, *Bertholletia excels* y *Copaifera* spp. En los resultados se evidencio que los aceites estudiados mostraron actividad antimicrobiana contra bacterias y hongos. *Copaifera* spp. presentó acción antimicrobiana; presentó actividad contra 14 especies, seguido de *C. guianensis* que tuvo acción contra 3 especies. En las bases de datos buscadas no se encontraron artículos que demostraran la acción antimicrobiana antimicrobiana de *B. excelsa*¹¹.

Marques D. (2018) investigó el efecto antibacteriano y larvicida *in vitro* de los aceites fijos (FO) de *Bertholletia excelsa* HBK y *Astrocaryum aculeatum* Meyer y los extractos metanólicos crudos (CMEs) de *Pentaclethra macroloba* (Willd.) Kuntze, *Parahancornia amapa* (Huber) Ducke y *Amasonia campestris* (Aubl.) Moldenke. En los resultados evidenciaron que los aceites fijos no presentaron eficacia inhibitoria contra las bacterias de estudio, pero en la actividad larvicida el aceite fijo de *B. excelsa* presentó CL50=28.89 a las 48 h de exposición larval¹².

Da silva L. et al (2017) evaluaron las plantas brasileñas seleccionadas por sus actividades antimicrobianas y antioxidantes *in vitro*. En los resultados la única planta con actividad antifúngica de amplio espectro fue *Bertholletia excelsa* (HEBe), con actividad moderada contra cepas de *Aspergillus* y *Candida*. Las actividades antibacterianas de estas plantas son de naturaleza bacteriostática, estos hallazgos respaldan que varias plantas investigadas podrían ser una fuente valiosa de nuevos compuestos antioxidantes y antimicrobianos¹³.

Desde tiempos remotos las plantas medicinales son un gran aporte como tratamientos alternativos para diversos tipos de enfermedades; de las cuales aún no han sido debidamente estudiadas. Por este motivo se nos hace necesario realizar estudios que determinen las propiedades medicinales de las diferentes plantas usadas en nuestro medio con la finalidad de apoyar al estudio científico; ya que en nuestra actualidad se está valorando el uso de productos naturales a nivel mundial ¹⁴.

El objetivo general del estudio fue evaluar el efecto antibacteriano *in vitro* de la resina *Bertholletia Excelsa* (castaña) sobre la cepa de *Staphylococcus epidermidis*

La hipótesis general del estudio se describe como:

- La resina de *Bertholletia Excelsa* (castaña) presentara efecto antibacteriano *in vitro* sobre la cepa de *Staphylococcus epidermidis* ATCC 14990.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 ENFOQUE Y DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

Enfoque: Cuantitativo.

Experimental: Porque se manejó la variable independiente.

Analítico: Porque son análisis que se tuvo que sacar conclusiones acerca de sus causas, efectos y consecuencias.

Explicativo: Porque su interés se centró en la justificación causal de la actividad antibacteriana in vitro frente a cepas de *Staphylococcus Epidermidis* ATCC 14990.

Transversal: Porque la información fue recolectada en un momento preciso del estudio.

2.2 POBLACIÓN, MUESTRA Y MUESTREO

La población estuvo conformada por 1000 gramos de la resina extraída de *Bertholletia excelsa* procedentes del centro poblado Mayor Alerta distrito Tahuamanu en el departamento de Madre de Dios a una altura de 320 m.s.n.m. Se realizó vistiendo la indumentaria de bioseguridad sanitaria como guantes, gorro, mascarilla, facial, barbijos, botas, reloj, cámara fotográfica, machete y cuaderno de registro

Posteriormente se llevó la muestra a un laboratorio de la Universidad Nacional Amazónica de Madre de Dios para su respectiva identificación botánica de la especie. Después se transportó al laboratorio Tecnología e Ingeniería de Procesos Industriales (TIPIN) de la ciudad del Cusco para marcha fitoquímica y hacer las diluciones a las concentraciones de 25 %, 50 % y 75 %¹⁶⁻¹⁷.

El muestreo fue aleatorizado en la zona de recolección.

La muestra estuvo constituida por 306 gramos de corteza extraída del árbol de castaña, en donde se colocó en una superficie plana para desinfección y retiro de todos los mohos que se encuentran en la corteza, luego se procede al picado de la corteza, después se procedió a colocar la corteza picada en un vaso

precipitado de 500 ml , conjuntamente se le agregó 300 ml de alcohol 96 % , se puso a baño maría por un tiempo de 40 minutos agitando con una bagueta cada 5 minutos, luego se filtra en un papel whatman, este proceso se repite por tres veces por agotamiento de la muestra .

Y por último se lleva a la estufa por 24 horas a una temperatura de 40 grados hasta que se evapore todo el alcohol retenido en la muestra, de esta forma se obtuvo el extracto seco de la materia (melcocha).

En cuanto a la unidad de análisis se utilizó una cepa de *Staphylococcus epidermidis* ATCC 14990 que fue adquirida de la empresa BRUKER.

2.3 VARIABLES DE INVESTIGACIÓN

Variable independiente: La resina de *Bertholletia excelsa* (castaña).

Definición conceptual: La resina de *Bertholletia excelsa* (castaña) a las concentraciones de 25 %, 50 % y 75 %.

Definición operacional: La extracción de la resina de la castaña a partir de la corteza del árbol.

Variable dependiente: Efecto antibacteriano in vitro frente a la cepa *Staphylococcus epidermidis* ATCC 14990.

Definición conceptual: Conjunto de compuestos que eliminan o reducen el crecimiento de la cepa de *Staphylococcus epidermidis*.

Definición operacional: La actividad antibacteriana se midió a través del método Kirby-Bauer.

2.4 TÉCNICAS E INSTRUMENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS

El procedimiento que se utilizó en el estudio es la percepción, y el instrumento de recolección de datos fue mediante el uso de fichas en las que se recepción los resultados de la prueba de solubilidad, tamizaje fitoquímico y del ensayo microbiológico para la bacteria utilizada ¹⁶.

2.5. PROCESO DE RECOLECCIÓN DE DATOS

2.5.1 Análisis previo del extracto de la resina

El análisis previo se realizó en el laboratorio de Investigación botánica Tecnología e Ingeniería de Procesos Industriales (TIPIN) en donde se realizaron las siguientes pruebas:

- a) **Índice afrosimétrico:** Se tomó 0.2 gramos de la resina en un tubo de ensayo con tapa rosca y se añadió 10 ml de agua destilada, se agitó vigorosamente durante 1 minuto, observándose la aparición de espuma muy persistente.
- b) **Determinación de pH a 25°C:** En un vaso precipitado se colocó 23 gr de resina en 5 mL de agua destilada, donde el agua destilada se disuelve en constante agitación a una temperatura de 30 °C. luego se midió en el potenciómetro de marca Hanna.
- c) **Prueba de solubilidad:** En 8 tubos de ensayo, se agregó 0.2 mL de la resina y posteriormente se agregaron los solventes (n-hexano, benceno, cloroformo, acetona, acetato de etilo, etanol 70 %, Etanol 96 %, Agua destilada) en cada tubo, el método de observación se determinó la solubilidad de la resina.

2.5.2 Marcha fitoquímica

La identificación de metabolitos secundarios se ejecutó mediante el análisis fitoquímico preliminar, por técnicas químicas de reacción por coloración y precipitación, como las de reacción de Shinoda (flavonoides), tricloruro de Hierro (compuestos fenólicos), tricloruro de Aluminio, acetato de Plomo, Dragendorff (alcaloides), otto (alcaloides), antraquinonas y naftaquinonas (Borntrager), y la prueba de la espuma (saponinas), según Olga Lock¹⁷⁻¹⁸⁻¹⁹.

2.5.3 Efecto antibacteriano método Kirby Bauer o antibiograma

Se realizó en laboratorio LAASA LAB por el método de difusión en agar (KIRBY- BAUER)

- a) Preparación de los extractos a ensayar:** La resina de *Bertholletia excelsa* (castaña) fue preparado a diferentes concentraciones etanol al 96% (25 %, 50 %, 75 %) para posteriormente utilizarlos en las pruebas microbiológicas ¹⁹⁻²⁰.
- b) Reactivación de la cepa:** La reactivación de la cepa de *Staphylococcus epidermidis* ATCC 14990 se procedió considerando todos los protocolos de seguridad y cuidados que recomienda el proveedor según ficha técnica ²¹. (ver anexo).
- c) Se preparó el inóculo:** Ajustándose la turbidez al 0,5 de la escala de McFarland agua destilada se usaron hisopos estériles a una distancia de 10 cm del mechero de Bunsen para sembrar el inóculo en placas petri que contenían agar Mueller-Hinton. Posteriormente las placas inoculadas se colocaron en una incubadora a 37°C por 24 horas.
- d) Preparación de los medios de cultivo:** Para el medio Agar Mueller Hinton, se disolvió 11.4 gr del medio en 300 ml de agua destilada. Después se calentó hasta llegar al punto de homogeneización, removiendo constantemente para su correcta disolución, se llevó a la autoclave a 121 °C durante 15 minutos, después se dejó enfriar hasta conseguir una temperatura de 37 °C para su distribución en las placas petri estériles ²¹.
- e) Inoculación de placas:** Se introdujo el hisopo esterilizado dentro del tubo de ensayo de 20 ml que contenía la cepa reactivada de *Staphylococcus epidermidis* ATCC 14990, se procedió a la siembra junto al mechero bunsen para evitar la contaminación de las placas petri, mediante la técnica de agotamiento de superficie, el cual consiste en pasar el hisopo de extremo a extremo de la placa para obtener un correcto crecimiento sobre la superficie del agar.
- f) Grupos a ensayar:** posteriormente en cada placa, se colocaron los discos previamente embebidos con las diferentes concentraciones de la resina de castaña; las placas se incubaron en una estufa a 37°C por 24 horas y finalmente se realizaron 5 repeticiones.

Grupo I: discos embebidos con etanol al 70 %.

Grupo II: discos de cefalexina 30 ug.

Grupo III: discos embebidos con resina al 25 %.

Grupo IV: discos embebidos con resina al 50 %.

Grupo V: discos embebidos con resina al 75%.

El ensayo se realizó según el método de Kirby-Bauer ²³, utilizando discos de difusión a partir de papel filtro Whatman N° 3 previamente esterilizado con un diámetro de 6 mm ²⁴. Luego en cada placa con ayuda de una pinza esterilizada se procedió a colocar los discos embebidos con los diferentes grupos anteriormente mencionados trabajando en condiciones asépticas ²⁴.

g) Interpretación de resultados: Se procedió a realizar la medición de los halos de inhibición con el uso de un vernier digital (Stanley) de 150 x 0,02 mm según escala Duraffourd²⁵.

2.6. MÉTODOS DE ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Los resultados se sometieron a análisis estadísticos utilizando el paquete informático Microsoft excel versión 2016, para realizar las pruebas de ANOVA y test de Tukey. Por otra parte, también se hizo uso del programa estadístico SPSS (Statistical Package for the Social Science) en su versión estable 26,0 ²⁶⁻²⁷.

2.7. ASPECTOS ÉTICOS

En la actual investigación se utilizó una cepa bacteriana y varios medios de cultivo; donde se cumplieron las normativas éticas de buenas prácticas de laboratorio y de bioseguridad tanto dentro como fuera de los ambientes donde se realizó los experimentos y ensayos de ética; establecida en la Declaración de Helsinki ²⁸⁻²⁹⁻³⁰.

III. RESULTADOS

3.1 De las pruebas de solubilidad

Tabla 1. Solubilidades de la resina de *Bertholletia excelsa* (castaña)

SOLVENTES	RESULTADOS
N-hexano	-
Benceno	+ +
Cloroformo	+ + +
Acetona	+ + +
Acetato de Etilo	-
Etanol 70 %	+ +
Etanol 96 %	+ + +
Agua Destilada	+ + +

Donde: (-) Insoluble (+) Poco soluble (++) Soluble (+++) Muy soluble

En la tabla 1, se puede apreciar que la muestra es soluble en la mayoría de los solventes a las que se sometió. También se puede apreciar que es muy soluble en etanol 96 %, como en agua destilada.

3.2 De la marcha fitoquímica

Tabla 2. Marcha fitoquímica de la resina de *Bertholletia excelsa*

CONSTITUYENTES QUÍMICOS	ENSAYO	REACCIÓN
Compuestos Fenólicos	RVO Tricloruro de Hierro FeCl ₃	+++
	RVO Tricloruro de Aluminio AlCl ₃	++
	RVO Acetato de plomo	-
Alcaloides	RVO Dragendorff	++
	RVO Otto	+++
Antraquinonas y Naftoquinonas	RVO Borntrager	+++
Flavonoides	RVO Shinoda	-
Saponinas	Índice afrosimétrico	+++

Dónde: (+++) Abundante (++) Moderado (+) Leve (-) Ausencia

En la tabla 2, se puede apreciar que la muestra tuvo presencia de bastantes metabolitos secundarios como: flavonoides, alcaloides y saponinas por lo que podemos deducir que la muestra tiene altas posibilidades de tener efecto antibacteriano.

3.3 Resultados del análisis *in vitro* por el método Kirby-Bauer

La tabla 3 muestra los resultados del ensayo microbiológico.

Tabla 3. Halos de inhibición de ensayo microbiológico en *Staphylococcus epidermidis* - ATCC 14990

Microorganismo	Diámetros de inhibición en mm			
	Análisis	25 %	50 %	75 %
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 14990	Análisis microbiológico 1	16,90	17,00	21,27
		16,03	18,14	20,39
		15,96	17,10	18,94
		17,06	17,10	19,17
		16,78	18,17	20,29
		16,46	16,77	18,70
	Análisis microbiológico 2	16,62	17,65	19,56
		17,08	19,08	18,29
		17,03	18,18	18,88
		16,92	17,71	20,20
		16,20	17,17	18,23
		16,88	17,96	19,07
	Análisis microbiológico 3	15,45	17,09	17,68
		15,03	17,12	19,29
		14,39	17,33	18,35
		15,17	17,18	18,55
		14,73	16,95	20,86
		15,96	17,28	20,62
Media		16,15	17,50	19,35

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

En la tabla 3 se muestran los resultados del ensayo microbiológico *in vitro*. Esto hace evidencia que el mayor halo de inhibición medio lo obtuvo el grupo experimental de

resina de *Bertholletia excelsa* (castaña) 75 % con 19.35 mm, seguido de 50 % y 25 % con 17.50 mm y 16.15 mm respectivamente.

Tabla 4. Halos de inhibición de ensayo microbiológico de controles frente a *Staphylococcus epidermidis* ATCC 14990

Microorganismo	Diámetros de inhibición en mm	
	Cefalexina 30µg	Alcohol al 70°
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 14990	31,45	6,24
	32,52	7,02
	31,25	6,92
Media	31,74	6,73

En la tabla 4 se muestran los resultados de los controles frente a *Staphylococcus epidermidis* - ATCC 14990 con una inhibición media de 31,74 mm para la Cefalexina 30 µg y 6,73 para el alcohol de 70 °.

Tabla 5. Estadísticos descriptivos de los resultados del ensayo microbiológico

Estadísticos		
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 14990		
N	Válido	90
	Perdidos	0
Media		18,2937
Mediana		17,2300
Moda		6, 73 ^a
Desv. Desviación		8,08160
Varianza		65,312
Asimetría		,342
Error estándar de asimetría		,254
Curtosis		-,536
Error estándar de curtosis		,503
Rango		25,01
Mínimo		6,73
Máximo		31,74
Suma		1646,43
Percentiles	25	15,3800
	50	17,2300
	75	20,3150
a. Existen múltiples modos. Se muestra el valor más pequeño.		

En la tabla 5 se muestra la estadística descriptiva con 95% de intervalo de confianza para las medidas de tendencia central (media, mediana) y medidas de dispersión (rango, desviación estándar) correspondientemente.

Tabla 6. Comparación de medias por el ANOVA.

ANOVA					
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 14990					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	5775,871	4	1443,968	3324,118	,000
Dentro de grupos	36,923	85	,434		
Total	5812,794	89			

Para la prueba de comparación de las varianzas entre las medias de los diferentes grupos se ejecutó un estadístico inferencial denominado (ANOVA). En la tabla 6 se muestra un valor de significancia asintótica bilateral menor al 0.05 para los resultados del ensayo microbiológico in vitro con la cepa bacteriana *Staphylococcus epidermidis* ATCC 14990. Esto es evidencia de que existe diferencias estadísticamente significativas entre los halos de inhibición medio de todos los grupos en el ensayo microbiológico según el estadístico de ANOVA.

Tabla 7. Prueba de Tukey

<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 14990						
HSD Tukey ^a						
Grupo	N	Subconjunto para alfa = 0.05				
		1	2	3	4	5
Control (Etanol 70°)	18	6,7300				
Resina 25 %	18		16,1472			
Resina 50 %	18			17,4989		
Resina 75 %	18				19,3522	
Cefalexina 30 µg	18					31,7400
Sig.		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 = 18,000.						

Tabla 7. Comparaciones múltiples por la prueba de Tukey

Variable dependiente: <i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 14990						
HSD Tukey						
(I) Grupo	(J) Grupo	Diferencia de medias (I-J)	Desv. Error	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
Cefalexina 30 µg	Control (Etanol 70°)	25,01000*	,21969	,000	24,3977	25,6223
	Resina 25 %	15,59278*	,21969	,000	14,9804	16,2051
	Resina 50 %	14,24111*	,21969	,000	13,6288	14,8534
	Resina 75 %	12,38778*	,21969	,000	11,7754	13,0001
Control (Etanol 70°)	Cefalexina 30 µg	-25,01000*	,21969	,000	-25,6223	-24,3977
	Resina 25 %	-9,41722*	,21969	,000	-10,0296	-8,8049
	Resina 50 %	-10,76889*	,21969	,000	-11,3812	-10,1566
	Resina 75 %	-12,62222*	,21969	,000	-13,2346	-12,0099

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

Para determinar si existen diferencias entre los halos de inhibición medio entre los grupos mediante múltiples comparaciones se utilizó el estadístico de Tukey. La tabla 7 muestra que los valores de significancia asintótica bilateral son menores al 0.05 en las comparaciones entre los grupos al 25, 50 y 75 % frente al grupo control (etanol 70°) y grupo cefalexina 30 µg en el ensayo microbiológico con la cepa bacteriana *Staphylococcus epidermidis* ATCC 14990. Esto es evidencia de que si existen diferencias estadísticamente significativas entre los grupos experimentales y el control. Sin embargo, se evidencia una diferencia significativa importante entre el grupo cefalexina 30 µg y los grupos experimentales que favorece al grupo cefalexina 30 µg. Esto es evidencia de que los grupos experimentales al 25, 50 y 75 %, si presentan efecto inhibitor del crecimiento de la cepa *Staphylococcus epidermidis* ATCC 14990.

IV. DISCUSIÓN

4.1 Discusión de resultados

En el presente estudio sobre el efecto antibacteriano in vitro de la resina de *Bertholletia excelsa* (castaña) frente a la cepa de *Staphylococcus epidermidis* ATCC 14990, presenta como primer ensayo la prueba de solubilidad, en la que los resultados mostraron que la resina de castaña fue muy soluble en etanol 96 %, agua Destilada, cloroformo y acetona, esto es evidencia de la afinidad que posee la resina por los solventes apolares y alcohólicos; y en cuanto al ensayo de la marcha fitoquímica fueron los compuestos fenólicos, alcaloides, saponinas, antraquinonas y naftoquinonas los principales metabolitos con mayor presencia; empleando el método según Olga Lock (57), esto es evidencia de las posibles acciones microbiológicas que posee esta planta frente a cepas antibacterianas.

Los resultados del estudio fitoquímico de la presente investigación coinciden con el de Fontoura B. et al (2021) quienes identificaron la presencia de compuestos fenólicos, terpenos y alcaloides en cortezas de *Bertholletia excelsa*, es un árbol importante debido al valor nutricional y económico, se encuentra principalmente en la región amazónica de Brasil. Sin embargo, las cortezas del árbol aún están poco estudiadas⁸. De igual importancia Ibiapina A. et al (2021) en su estudio identificaron la presencia de antioxidantes naturales, como carotenoides y tocoferoles en el aceite de semillas de *Bertholletia excelsa*, estos frutos oleaginosos tienen ácidos grasos esenciales y una buena estabilidad oxidativa. Los aceites esenciales de estas especies de semillas oleaginosas tienen propiedades antibióticas y antiinflamatorias⁹. Finalmente, el presente estudio difiere de la investigación de Sangama D. (2020) quienes evaluaron la composición química de extractos y sustancias de *Bertholletia excelsa*, evidenciando la presencia de ácido valoneico dilactona, ácido elágico hexosídeo, ácido elágico pentosídeo, eschweilenol C, ácido elágico, ácido metil elágico ramnospiranosídeo, ácido gálico¹⁰.

El ensayo microbiológico in vitro para determinar el efecto antibacteriano in vitro de la resina de *Bertholletia excelsa* (castaña) a las concentraciones de 25%, 50% y 75% frente a la cepa de *Staphylococcus epidermidis* ATCC 14990, evidenció que el extracto al 25% generó un halo de inhibición medio de 16,15 mm, seguido de los extractos al

50 y 75% con halos de inhibición medios de 17,50 y 19,35 mm. respectivamente. Además, se evidenció que los 3 grupos experimentales presentaron diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$) en las pruebas estadísticas de ANOVA y Tukey. Por lo tanto, según la escala de Duraffourd esta cepa bacteriana tiene una sensibilidad media para los 3 extractos.

De igual importancia difiere con el estudio de Fontoura B. et al (2021) quienes determinaron la actividad antibacteriana de cortezas de *Bertholletia excelsa* frente a cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Salmonella enterica* Typhimurium ATCC 0028, asimismo mediante el análisis estadístico ANOVA y Tukey no encontraron diferencias significativas, cabe destacar que las cortezas de *Bertholletia excelsa* podrían considerarse una fuente potencial de compuestos bioactivos con fuertes propiedades antioxidantes y antimicrobianas⁸. De igual manera, el estudio de Pereira N. et al (2019) sobre la revisión sistemática del potencial biotecnológico del aceite de *Bertholletia excelsa*, se muestra que en las bases de datos buscadas no se encontraron artículos que demostraran la acción antimicrobiana de *Bertholletia excelsa*¹¹.

Por otro lado, el presente estudio muestra semejanzas con la investigación de Sangama D. (2020) quien evaluó la actividad antiplasmódica in vitro de extractos y sustancias de *Bertholletia excelsa*, el fraccionamiento bioguiado demostró ser eficiente en el aislamiento de sustancias con actividad antiplasmódica in vitro¹⁰. Asimismo, Marques D. (2018) en su estudio sobre el efecto antibacteriano y larvicida in vitro de los aceites fijos de *Bertholletia excelsa* HBK, identificaron que los aceites fijos no presentaron eficacia inhibitoria contra las bacterias de estudio, pero en la actividad larvicida el aceite fijo de *B. excelsa* presentó $CL_{50} = 28.89$ a las 48 h de exposición larval¹². Finalmente, en el estudio de Da silva L. et al (2017) se evaluó la actividad antimicrobiana de *Bertholletia excelsa*, demostrando su actividad antifúngica frente a cepas de *Aspergillus* y *Candida*. Las actividades antibacterianas de estas plantas son de naturaleza bacteriostática, estos hallazgos respaldan que varias plantas investigadas podrían ser una fuente valiosa de nuevos compuestos antioxidantes y antimicrobianos¹³.

4.2 Conclusiones

Los estudios realizados en el presente trabajo nos permiten llegar a las siguientes conclusiones:

- La resina de *Bertholletia excelsa* (castaña) presenta actividad antibacteriana frente a cepas de *Staphylococcus epidermidis* ATCC 14990
- Los metabolitos secundarios que se identificaron en la marcha fitoquímica de la resina de *Bertholletia Excelsa* (castaña) fueron compuestos fenólicos, alcaloides, saponinas, antraquinonas y naftoquinonas.
- La resina de *Bertholletia excelsa* (castaña) al 25, 50 y 75% posee efecto antibacteriano in vitro frente a *Staphylococcus epidermidis* ATCC 14990.
- La resina de *Bertholletia excelsa* (castaña) al 25, 50 y 75% no superan el efecto inhibidor de la Cefalexina 30µg frente a *Staphylococcus epidermidis* ATCC 14990.

4.3 Recomendaciones

- Fomentar investigaciones más profundas de los recursos vegetales para evitar la toxicidad que producen los fármacos sintéticos.
- Realizar estudios complementarios in vivo de la resina de *Bertholletia excelsa* (castaña) para incentivar su uso.
- Realizar estudios comparativos sobre el efecto antibacteriano de las diferentes partes de la planta de castaña.
- Complementar estudios de la resina de *Bertholletia excelsa* evaluando el efecto antibacteriano frente a otras cepas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Santamaría V, Alvarado A, Flora cutánea como protección y barrera de la piel normal. Rev med 2012; 11(1).
2. Claudell JP, Auffret N, Leccia MT, Poli F, Corvec S, Dréno B. *Staphylococcus epidermidis* : a Potential New Player in the Physiopathology of Acne? Dermatology 2019 [acceso: 03/05/2021] 235:287–294. Disponible en: <https://doi.org/10.1159/000499858>
3. OMS. Datos recientes revelan los altos niveles de resistencia a los antibióticos en todo el mundo [citado: 2021 abril 20]. Disponible en: <https://www.who.int/mediacentre/news/releases/2018/antibiotic-resistance-found/es/h>
4. Alós J. [Resistencia a los antibióticos: una crisis global]. Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Diciembre de 2015; 33(10): 692-699 DOI: 10.1016 / j.eimc.2014.10.004. PMID: 25475657.
5. Nguyen TH, Park MD, Otto M. Host response to *staphylococcus epidermidis* Colonization and Infections. Front Cell Infect Microbiol. 2017 Marzo 2021:7:90. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28377905/>
6. Vuong C, Kocianova S, Yao Y, Carmody A, Otto M. Increased Colonization of indwelling Medical Devices by Quorum-Sensing Mutants of *Staphylococcus epidermidis* in vivo. J Infect Dis. 2004; 190(8):1498-505 Disponible en : <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15378444/>
7. Domínguez A, Jimenez D. Caracterización y estimación de la vida útil del aceite de castaña (*Bertholletia Excelsa*) mediante pruebas aceleradas.[Tesis para obtener el título profesional de Ingeniero Agroindustrial]. Universidad Nacional del Santa. Chimbote;2017. Disponible en: <http://repositorio.uns.edu.pe/bitstream/handle/UNS/2794/42935.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
8. Fontoura B, Perin E, Gnoatto G, Das Chaves T, Carpes S, La actividad antioxidante y antibacteriana de la Bertolletia excelsa (nuez de Brasil) corta a

- través de la planificación experimental del diseño rotacional compuesto central. Galoá. 2021; 1(1):1-10 Disponible en: <https://proceedings.science/slaca-2021/papers/antioxidant-and-antibacterial-activity-of-thebertholettia-excelsa--brazil-nut--barks-through-experimental-planning-of-t>
9. Ibiapina A, Da Silva L, Barros B, Bastos B, De Souza G, Melo A. Essential and fixed oils from Amazonian fruits: properties and applications. Food Science and Nutrition. 2021, 1(1): 1-14 Disponible en: <https://doi.org/10.1080/10408398.2021.1935702>
 10. Sangama D. Isolamento de substâncias ativas, atividade antimicrobiana in vitro e antioxidante da Bertholletia excelsa Bonpl. (castanha-do-Brasil). [Tesis de posgrado]. [Manaus]: Universidade Federal Do Amazonas; 2020. 159. Disponible en: <https://tede.ufam.edu.br/handle/tede/8197>
 11. Pereira N, De Oliveira D, Siviero A. Biotechnological potential of the Carapa guianensis, Bertholletia excelsa and Copaifera spp. Oils. Journal of Medicinal Plants Research. 2019; 13(17): 413-422 Disponible en: <https://academicjournals.org/journal/JMPR/article-full-text-pdf/AE7748762034>
 12. Marques D. Atividade antimicrobiana e larvicida de óleos fixos e extratos brutos de cinco espécies vegetais da amazônia. [Tesis de posgrado]. [Macapa]: Universidade Federal Do Amapá; 2018. 90. Disponible en: <http://repositorio.unifap.br:80/jspui/handle/123456789/347>
 13. Da silva L, Karuppusamy A, Miyajima F, Pova I, Costa I, Balogun S. Antimicrobial and antioxidant activities of selected plants used by populations from juruena valley, legal amazon, Brazil. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. 2017, 9(5): 1-13 Disponible en: <https://doi.org/10.22159/ijpps.2017v9i5.17086>
 14. Coello B, Mejia C. Actividad antibacteriana in vitro del extracto etanólico de las hojas de *Ricinus Communis L* (higuera) frente a *Escherichia Coli* . [Tesis para obtener el título profesional de Químico Farmacéutico].Universidad Maria

- Auxiliadora de Lima. Facultad de ciencias de la salud. Lima; 2021. Disponible en: <http://repositorio.uma.edu.pe/handle/UMA/420>
15. Moreno M, Ruiz E. *Staphylococcus epidermidis* formador de biofilm en blefaroconjuntivitis. Rev Med del Hospital General en México 2007 [acceso: 21/04/2021]; 70(1): 24 - 29. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/h-gral/hg-2007/hg071e.pdf>
 16. Centurión J. Determinación del efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de *Laurus nobilis* “LAUREL” frente a *Staphylococcus aureus* [Tesis para optar el título Profesional de médico Cirujano]. Perú: Universidad Privada Antenor Orrego; 2017 Disponible en: <https://repositorio.upao.edu.pe/handle/20.500.12759/2580>
 17. Flores J. Determinación de la actividad antibacteriana “in vitro” del aceite esencial de *Luma chequen* (molina) a. Gray “arrayán” frente a *Streptococcus mutans*. [Tesis para optar el título Profesional de Cirujano Dentista]. Perú: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2015. Disponible en: <https://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/20.500.12672/3690>
 18. Katerin C. Efecto antibacteriano in vitro del extracto de *Equisetum arvense* (Cola de Caballo) sobre el *Streptococcus mutans*, Puno -2018. [Tesis para obtener el título profesional de Licenciada en Enfermería]. Universidad Nacional del Altiplano. Facultad de Enfermería, Escuela de Enfermería Puno 2018. Disponible en: <http://repositorio.unap.edu.pe/handle/UNAP/9628>
 19. Solano L, Efecto Antifúngico del aceite esencial de *rosmarinus officinalis* L. “Romero” sobre cepas de *cándida albicans* ATCC 10231 comparado con fluconazol [Tesis para optar el título Profesional de médico Cirujano]. Perú: Universidad César Vallejo; 2018 Disponible en: <https://hdl.handle.net/20.500.12692/25513>
 20. Chota G. , Meléndez M. “Actividad antibacteriana in vitro del extracto etanólico de cortezas de *Cariniana decandra* Ducke (Cinta caspi) frente *Escherichia coli* Y *Staphylococcus aureus* [Tesis para optar el título Profesional de Químico

Farmacéutico J. PERÚ Universidad nacional de la amazonia peruana 2015
Disponible en:

[file:///C:/Users/ADMIN1/Downloads/Gabino_Tesis_Titulo_2015%20\(1\).pdf](file:///C:/Users/ADMIN1/Downloads/Gabino_Tesis_Titulo_2015%20(1).pdf)

21. VanAken SM, Newton D, Vanepps J. Improved diagnostic prediction of the pathogenicity of bloodstream isolates of *Staphylococcus epidermidis*. PLoS One. 2021[acceso: 20/04/2021]; 26;16(3). Disponible en:
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33770084/>
22. Cherifi S, Byl B, Deplano A, Nagant C, Nonhoff C, Denis O, Hallin M. Genetic characteristics and antimicrobial resistance of *Staphylococcus epidermidis* isolates from patients with catheter-related bloodstream infections and from colonized healthcare workers in a Belgian hospital. Ann Clin Microbiol Antimicrob. 2014 [acceso:30/04/2021] 4;13:20. Disponible en:
<https://ann-clinmicrob.biomedcentral.com/articles/10.1186/1476-0711-13-20>
23. Maye B, Miguel G. El antibiograma de discos. Normalización de la Técnica de Kirby-Bauer. Biomédica. 2018;35(1):103-9.
24. Cherifi S, Byl B, Deplano A, Nonhoff C, Denis O, Hallin M. Comparative epidemiology of *Staphylococcus epidermidis* isolates from patients with catheter-related bacteremia and from healthy volunteers. J Clin Microbiol. 2013 [acceso: 20/04/2021] ;51(5):1541-7. Disponible en:
<https://jcm.asm.org/content/51/5/1541>
25. Farje C. Presencia de *Staphylococcus epidermidis* en el spray de las jeringas triple de las unidades dentales de la clinica Estomatologica.[Tesis para obtener el título de Maestro en Estomatología].Universidad Nacional Toribio Rodriguez de Mendoza de Amazonas;2018 Chachapoyas Disponible en:
<http://repositorio.untrm.edu.pe/handle/UNTRM/1526>
26. Cahuana T, Determinación del efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de *Laurus nobilis* "LAUREL" SOBRE *Escherichia coli* ATCC 25922 Comparado con Ciprofloxacino[Tesis para optar el título Profesional de médico Cirujano]. Perú: Universidad César Vallejo ; 2018 Disponible en:
<https://repositorio.ucv.edu.pe/handle/20.500.12692/25920>

27. Arenas Y. Determinación del efecto antimicrobiano in vitro de la resina de *Copaifera paupera* (copaiba) sobre el crecimiento de *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Pseudomona aeruginosa* y *Candida albicans* Arequipa 2013. [Tesis para obtener el título profesional de Químico Farmacéutico]. Universidad Católica Santa María. Facultad de ciencias de la salud. Arequipa; 2013. Disponible en:

https://alicia.concytec.gob.pe/vufind/Record/UCSM_65332990e7766bcb4045582dbf9e82e7

28. Amaya D, Determinación del Efecto Antimicrobiano del Aceite Esencial de *Eucalyptus globulus* "EUCALIPTO", sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 comparado con oxacilina. [Tesis para optar el título Profesional de médico Cirujano]. Perú: Universidad César Vallejo; 2018 Disponible en:

<https://hdl.handle.net/20.500.12692/25408>

29. García P, Determinación del Efecto Antibacteriano in vitro del aceite esencial de *Plantago major* "llantén" sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 Comparado con ciprofloxacino. [Tesis para optar el título Profesional de médico Cirujano]. Perú: Universidad César Vallejo; 2019 Disponible en:

<https://hdl.handle.net/20.500.12692/29778>

30. Anaya E, Determinación del efecto antibacteriano del aceite esencial de *aloesia triphylla* "cedrón" sobre *staphylococcus aureus* atcc 25923 comparado con oxacilina. [Tesis para optar el título Profesional de médico Cirujano]. Perú: Universidad César Vallejo; 2018 Disponible en:

<https://hdl.handle.net/20.500.12692/25884>

ANEXO

Anexo A. Operacionalización de las variables

variables	tipo de variable	definición conceptual	definición operacional	dimensiones	indicadores	n° item	valor final	critérios
<p>VARIABLE INDEPENDIENTE</p> <p>Resina de <i>Bertholletia Excelsa</i> (castaña)</p>	Cualitativo	Los componentes activos presentes en la resina presentaran propiedades biológicas y suelen aplicarse de diferentes problemas de salud	La resina de Bertholletia Excelsa es la forma de concentrar y obtener los principios activos	Tamizaje fitoquímico	Presencia de metabolitos secundarios	5	<p>++++ Abundante +++ Moderado ++ Leve + Escaso - Ausente</p>	Rango de presencia o ausencia

<p>VARIABLE DEPENDIENTES</p> <p>Efecto antibacteriana frente a la cepa de <i>Staphylococcus epidermidis</i></p>	<p>Cuantitativo</p>	<p>Conjunto de compuestos que eliminan o reducen el crecimiento de la cepa de <i>Staphylococcus Epidermidis</i>.</p>	<p>La actividad antibacteriana Método Kirby Bauer</p>	<p>Inhibición del crecimiento bacteriano</p>	<p>Halo de inhibición (mm)</p>	<p>2</p>	<p>Crecimiento o Sin crecimiento o</p>	<p>Evidencia de inhibición de crecimiento</p>
--	---------------------	--	---	---	--------------------------------	-----------------	--	--

ANEXO B. INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS

MARCHA FITOQUÍMICA DE LA RESINA DE *BERTHOLLETIA EXCELSA*

CONSTITUYENTES QUÍMICOS	ENSAYO	REACCIÓN
Flavonoides	RVO Tricloruro de Hierro FeCl ₃	
	RVO Tricloruro de Aluminio AlCl ₃	
	RVO Acetato de plomo	
Alcaloides	RVO Dragendorff	
	RVO Otto	
Antraquinonas y Naftoquinonas	RVO Borntrager	
Compuestos Fenólicos	RVO Shinoda	

DE LA EFECTO ANTIBACTERIANO DE LA RESINA DE *BETHOLLETIA EXCELSA*

Concentración : Volumen : 20µL.						
Microorganismo: <i>Staphylococcus epidermidis</i> - ATCC 14990.						
	Placa 1	Placa 2	Placa 3	Placa 4	Placa 5	Placa 6
Halos inhibición					.	
Halos inhibición						
Halos inhibición						
Halos inhibición						
Halos inhibición	.					.
Promedio						

Fuente :Elaboración propia 2021

ANEXO C. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA

"Madre de Dios Capital de la Biodiversidad del Perú"
"Año del Bicentenario del Perú: 200 años de Independencia"

CERTIFICACIÓN DE IDENTIFICACIÓN TAXONÓMICA DE ESPECIMENES VEGETALES

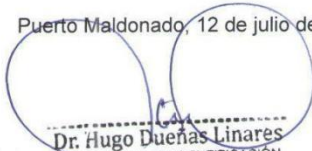
El que suscribe, **Dr. HERNANDO HUGO DUEÑAS LINARES**, Especialista Nacional en Identificación Taxonómica de especies de flora silvestre, mediante Resolución Directoral N° 054-2017-SERFOR/DGGSPFFS-DGSPF, con Código de Licencia LC-ES-2017-009; del Servicio Nacional Forestal y de Fauna Silvestre-SERFOR.

CERTIFICA, que los especímenes (05) presentados por los señores **BACHILLERES: JUAN DANIEL LUZA LEIVA y DAVID ALONSO PARILLO MAMANI**, de la Facultad de Ciencias de la Salud, Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, de la Universidad María Auxiliadora; para su identificación y/o determinación, para efectos del proyecto de tesis **"EFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DE LA RESINA DE BERTHOLLETIA EXCELSA (CASTAÑA) FRENTE A LA CEPA DE STAPHYLOCOCCUS EPIDERMIDIS"**. Corresponden a los siguientes taxa aceptados oficialmente:

NOMBRE CIENTÍFICO	NOMBRE VERNACULAR	FAMILIA
<i>Bertholletia excelsa</i>	"castaña"	LECYTHIDACEAE

De acuerdo a la descripción de sus características vegetativas y reproductivas, las que están registrada para la Flora de Perú: Departamento de Madre de Dios; en el Catálogo de Angiospermas y Gimnospermas del Perú de Lois Brako and James L. Zarucchi (1993), al APG IV (Angiosperm Phylogenetic Group, 2016) y en el Taxonomic Name Resolution Service v4.1. (2020). Se expide el presente certificado a solicitud de la interesada para los fines que considere conveniente. Se anexa al presente Certificado de Identificación los datos correspondientes a la especie en formato Excel.

Puerto Maldonado, 12 de julio de 2021


Dr. Hugo Dueñas Linares
ESPECIALISTA EN IDENTIFICACIÓN
TAXONÓMICA DE FLORA SILVESTRE
Código LIC-ES-2017-009

Av. Ernesto Rivero 1160, Puerto Maldonado-Madre de Dios-Perú
Email: huduli_hugo@yahoo.es Cel: 956-740299

**IDENTIFICACION TAXONOMICA DE ESPECIMENES VEGETALES
JULIO , 2021**

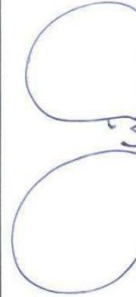
"EFECTO ANTIBACTERIANO DE LA RESINA DE *Bertholletia excelsa* (castaña) FRETE A LA CEPA DE DE STAPHYLOCOCCUS EPIDERMIDIS

**UNIVERSIDAD MARIA AUXILIADORA
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA
BACHILLERES: JUAN DANIEL LUZA LEIVA & DAVID ALONSO PARILLO MAMANI**

Nº	NOMBRE CIENTÍFICO	NOMBRE COMÚN	FAMILIA	HABITO	HABITAT	LOCALIDAD	Colector	Fecha Coll	ID
1	<i>Bertholletia excelsa</i>	"castaña"	LECYTHIDACEAE	Árbol	Bosque de terraza alta	Centro poblado mayor/Alerta	JLL&DPM	04/07/2021	HDL

Referencias:

- Vouchers colección JLL & DPM, 04/07/2021
- Vouchers Herbario San Marcos (HSM), 2021
- Vouchers Herbario MQL, 2021
- APG IV, 2016
- Voucher Herbario "Alwyn Gentry", 2021
- Taxonomic Resolution Service v4.1., 2021
- The Plant List, 2021
- Tropicos, Missouri Botanical Garden, 2021


Dr. Hugo Dueñas Linares
 ESPECIALISTA EN IDENTIFICACIÓN
 TAXONOMICA DE FLORA SILVESTRE
 Código LIC-ES-2017-009

Puerto Maldonado, 12 de julio de
 Dr. Hugo Dueñas Linares
 Especialista en ID Taxonomica de Flora Silve
 RD N° 054-2017-SERFOR/DGGSPFFS-DGSPF
 Código Licencia LC-EC-2017-00

ANEXO D: Certificado de la marcha fitoquímica de la resina



Asesoría en ingeniería de Procesos
Pedidos y solicitud de asesoría al :
Cel. 974417999, E-Mail: yacopy1@yahoo.es

FICHA DE TRABAJO: David Alonso Parillo Mamani y Juan Daniel Luza Leiva FECHA: 12 DE JULIO DEL 2021
MUESTRA PROBLEMA: RESINA DE BERTHOLLETIA EXCELSA (CASTAÑA)

METABOLITO Método	PROCEDIMIENTO	CAMBIO/ COLOR Respuesta:	APLICA A:
FLAVONOIDES Con: Tricloruro de Hierro FECL ₃	0.1gr de muestra + 2ml de etanol 70% + 8 ml de agua destilada 3-5 gotas del reactivo FECL ₃	<u>PRESENTA CAMBIO :</u> Azul oscuro rpta: + calif: +++	<u>CONTIENE:</u> Flavonoides Pirocateicos (abundantes)
FLAVONOIDES Con: Tricloruro de Aluminio ALCL ₃	0.1 gr muestra (melcocha) + 2 ml etanol 70% + 8 ml de agua destilada + 1-5 gotas del reactivo de ALCL ₃	<u>PRESENTA CAMBIO :</u> enturbiamiento rpta: + calif: ++-	<u>CONTIENE:</u> Flavona y flavones (mediana conc)
FLAVONOIDES Acetato de Plomo	0.1 gr muestra (melcocha) + 2 ml etanol 70% + 8 ml de agua destilada + 3-5 gotas del reactivo de Acetato de Plomo	<u>NO PRESENTA CAMBIO :</u> rpta: - calif: ---	<u>NO CONTIENE:</u> Taninos catequínicos
ALCALOIDES Dragendorff	0.1 gr muestra (melcocha) + 2 ml etanol 70% + 8 ml de agua destilada + 3 gotas ácido HCL4 + el reactivo	<u>PRESENTA CAMBIO :</u> coloración rojo ladrillo con precipitación rpta: ++-	<u>CONTIENE:</u> Alcaloides en general (mediana concentración)
ALCALOIDES Otto	0.1 gr muestra (melcocha) + 2 ml etanol 70% + 8 ml de agua destilada + 2 gotas ácido sulfúrico 80% + el reactivo: Dicromato de potasio	<u>PRESENTA CAMBIO :</u> rojo intenso rpta: + calif: +++	<u>CONTIENE:</u> Alcaloides indólicos (abundantes)
ANTRAQUINONAS Y NAPTOQUINONAS Borntrader	0.1 gr muestra (melcocha) + 2 ml etanol 70% + 8 ml de agua destilada + 3-5 gotas del reactivo de NAOH	<u>PRESENTA CAMBIO :</u> laca roja rpta: + calif: +++	<u>CONTIENE:</u> Flavonoides antraquinonas (abundante)
SAPONINAS Espuma	0.2 gr muestra (melcocha) + 16 ml de agua destilada se agita por 1 minuto con tapa	<u>PRESENTA CAMBIO :</u> espuma persistente x mas de 10 minutos calif:+++	<u>CONTIENE:</u> Saponinas y Sapogeninas (abundante)
Cto FENOLICOS Shinoda	0.1 gr muestra (melcocha) + 2 ml etanol 70% + 8 ml de agua destilada + trozos de Magnesio Metálico + 2-3 gotas de HCL	<u>NO PRESENTA CAMBIO :</u> rpta: - calif: ---	<u>NO CONTIENE:</u> Flavonoides Benzopiránicos

Laboratorista: QCO. JULIO RAMOS YACO C.Q.P -483


 TECNOLOGÍA E INGENIERÍA DE
 PROCESOS INDUSTRIALES S. R. L.

 Qco. Julio Ramos Yaco
 COP. 483
 GERENTE T.I.P.I.N. 2018

ANEXO E. Certificado de análisis de la cepa *Staphylococcus epidermidis* ATCC 14990



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

Specifications Microorganism Name: Staphylococcus epidermidis Catalog Number: 0412 Lot Number: 412-99** Reference Number: ATCC® 14990™* Purity: Pure Passage from Reference: 3	Expiration Date: 2021/9/30 Release Information: Quality Control Technologist: Kieshia L Negen Release Date: 2019/10/25
---	---

Performance	
Macroscopic Features: Small to medium, smooth, raised, glistening, entire edge, white. Microscopic Features: Gram positive cocci usually in pairs and and tetrads.	Medium: SBAP Method: Gram Stain (1)
ID System: MALDI-TOF (1) See attached ID System results document.	Other Features/ Challenges: Results (1) Catalase (3% Hydrogen Peroxide): positive (1) Coagulase (rabbit plasma-tube): negative <div style="text-align: right;"> 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.



ANEXO F. Constancia de participación en la elaboración de la resina de bertholletia excelsa (castaña)



TECNOLOGÍA E INGENIERÍA
DE PROCESOS INDUSTRIALES
T.I.P.I.N. SRL.

Asesoría en ingeniería de Procesos
Pedidos y solicitud de asesoría al :
Cel. 974417999. E-Mail: yacopy1@yahoo.es

CERTIFICADO DE PRÁCTICA

El Representante de la empresa TECNOLOGIA E INGENIERIA DE PROCESOS INDUSTRIALES SRL, con RUC: 20527703191, ubicado en CORONEL LATORRE Lt. 26 INT, ASOC PATA PATA, SAN JERONIMO- CUSCO

CERTIFICA:

Que, Los Bachilleres David Alonso Parillo Mamani y, Juan Daniel Lusa Leiva, Egresada De la Universidad ALAS PERUANAS de la FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD, ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA.

Realizo una pasantía de prácticas pre-profesiones en las instalaciones y en el laboratorio especializado de la empresa en el siguiente periodo 03 al 04, de Agosto del 2021.

Donde desarrollo las siguientes actividades:

Operaciones básicas de laboratorio.
Proceso de obtención del extracto de la muestra objeto de estudio.
Índice Afrosimetrico.
Determinación del pH.
Prueba de Solubilidad.
Marcha Fitoquímica.

Se le otorga el presente certificado por la pasantía en calidad de prácticas.

San Jerónimo, 04 de agosto del 2021.

C.G.P. 4183.

ANEXO G. Constancia de prácticas de participación en el laboratorio microbiológico.



LAASA LAB

Servicios en análisis de aguas, alimentos y monitoreo ambiental

RUC: 20607268526

CONSTANCIA DE PRACTICAS

La que suscribe, Blga. María del Carmen Yáñez Mujica, Gerente del Laboratorio LAASA Lab. EIRL., hace constar que:

Los Bachilleres de la ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD DE LA UNIVERSIDAD MARIA AUXILIADORA; PARILLO MAMANI, DAVID ALONSO y LUZA LEIVA, JUAN DANIEL, realizaron Ensayos Microbiológicos de actividad antibacteriana in vitro de la Resina de Bertholletia Excelsa (Castaña) frente a la Cepa de Staphylococcus epidermidis - ATCC 14990, en nuestras instalaciones con el Método de Difusión en Agar según Kirby Bauer y Col Modificado, desde el 15 de julio hasta el 30 de julio del 2021.

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

Cusco, 30 de julio del 2021.


Blga. María del Carmen Yáñez Mujica
CBP. 8298
GERENTE
LAASA LAB
SERVICIOS EN ANALISIS DE AGUAS ALIMENTOS
MONITOREO AMBIENTAL.

 Urb. Magisterio Av. José Gabriel Cosío 403-A 1ra Etapa.

 984782192 / 084 - 505814

ANEXO H. EVIDENCIAS FOTOGRÁFICAS DEL TRABAJO DE CAMPO



Figura 1: Foto del árbol en estudio.



Figura 2 : Foto extracción de la resina y corteza.



Figura 3: Desinfección de la corteza para extracción de la resina *bertholletia excelsa*.



Figura 4: Foto de corteza picada y luego en baño maria embebido en etanol al 96 %.



Figura 5: Foto del filtrado de resina de bertholletia excelsa y posteriormente se coloca en la estufa a 40 grados por 24 horas.



Figura 6: Obtención de la resina en melcocha.



Figura 7: Reactivos para la marcha fitoquímica junto a sus resultados.

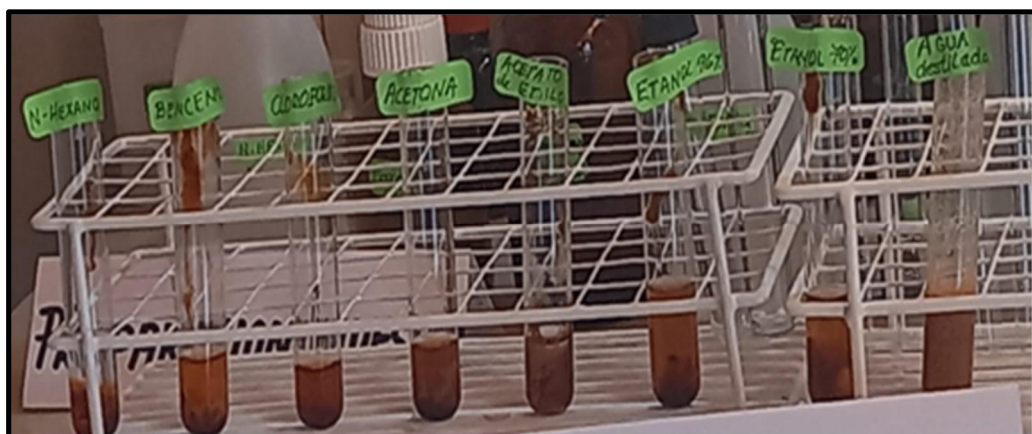


Figura 8 : Solventes para la prueba de solubilidad y sus respectivos resultados.



Figura 9 : Producto terminado la resina al 25 %, 50 %y 75 %



Figura 10 : Preparación del medio del cultivo.



Figura 11 : Foto de esterilización de material y inoculado del medio en las placas petri.



Figura 12 : Foto siembra de cepa y después se traslada a la incubadora a 37°C por 24 horas.



Figura 13 : Foto en donde se realiza rotulado de la placas petri y el debido sembrado del papel whatman con resina de castaña.

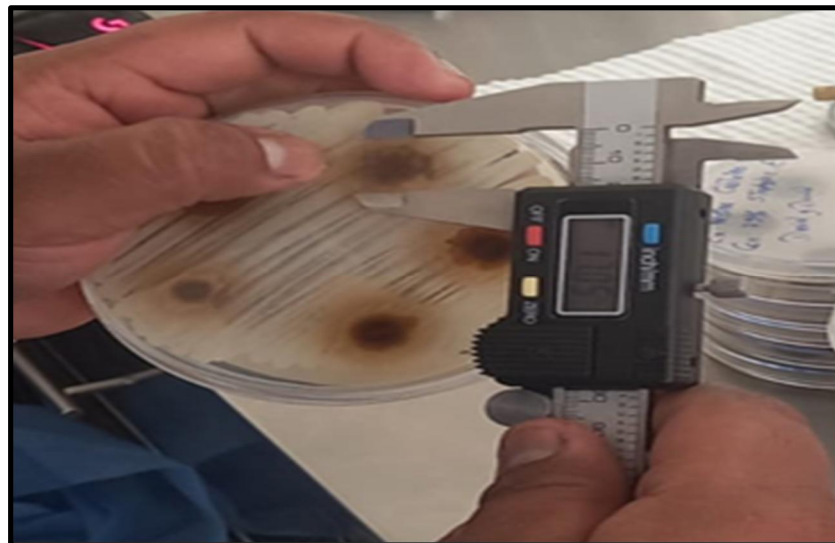


Figura 14: Foto en donde se está realizando las respectivas lectura de los halos de inhibición de las placas petri.

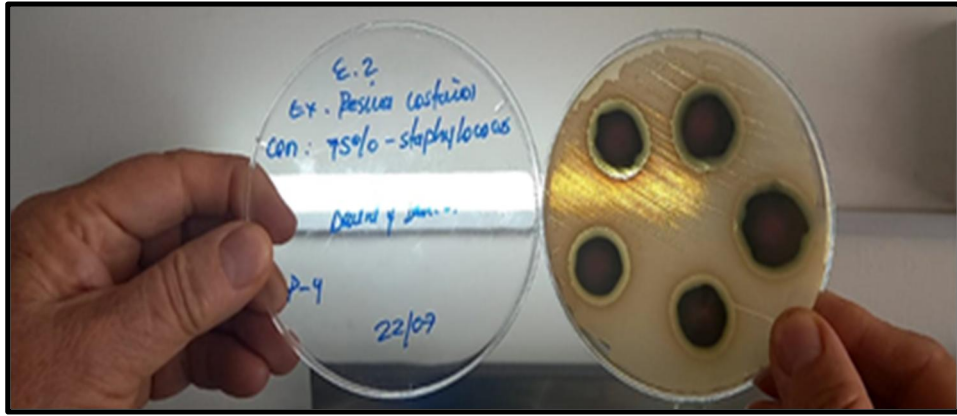


Figura 15: Foto en donde se aprecia los diámetros de la resina al 75 %