



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

**EFFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS
HOJAS DE MAURIA HETROPHYLLIA KUNTH (TRES HOJAS) FRENTE A
STAPHYLOCOCCUS AUREUS ATCC25923**

TESIS PARA OPTAR AL TÍTULO DE QUÍMICO FARMACÉUTICO

AUTOR

ROJAS VILLANUEVA KAREN VANNESA

ASESOR

DR. NESQUEN JOSÉ TASAYCO YATACO

LIMA – PERÚ

2019

Dedicatoria

Dedico este trabajo a mi familia por haberme ayudado en todo momento ,porque en la actualidad muchos de mis logros son gracias a ellos por haberme puesto reglas y con algunas libertades , pero al final de todo me motivaron constantemente para alcanzar mis objetivos

Agradecimiento

Gracias a las autoridades de la universidad por haberme guiado en todo este tiempo de realizacion y compromiso que tiene con nosotros , a mi familia por haberme apoyado en todo momento.

ÍNDICE GENERAL

Dedicatoria.....	2
Agradecimiento.....	3
Índice general.....	4
Índice de tablas.....	6
Índice de figuras.....	7
Resumen.....	8
Abstract.....	9
Introducción.....	10
Capítulo I: Planteamiento del problema.....	11
1.1. Descripción de la realidad problemática.....	11
1.2. Formulación del problema.....	12
1.2.1. Problema general.....	12
1.2.2. Problemas específicos.....	12
1.3. Objetivos de la investigación.....	12
1.3.1. Objetivo general.....	12
1.3.2. Objetivos específicos.....	12
1.4. Justificación.....	12
Capítulo II: Fundamentos teóricos.....	14
2.1. Antecedentes.....	14
2.1.1. Nacionales.....	14
2.1.2. Internacionales.....	15
2.2. Bases teóricas.....	16
2.3. Marco conceptual.....	22
2.4. Hipótesis.....	23
2.4.1. Hipótesis general.....	23
2.4.2. Hipótesis específicas.....	23
2.5. Operacionalización de variables.....	23
Capítulo III: Metodología.....	25
3.1. Tipo y nivel de investigación.....	25
3.2. Descripción del método y diseño.....	25
3.3. Población y muestra.....	29
3.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	29
3.5. Técnicas de procesamiento y análisis de datos.....	29
Capítulo IV: Presentación y análisis de los resultados.....	30

4.1. Presentación de resultados	30
4.2. Prueba de hipótesis	42
4.3. Discusión de resultados	46
Capítulo V: Conclusiones y recomendaciones	48
5.1. Conclusiones	48
5.2. Recomendaciones	48
Referencias bibliográficas	49
Anexos	52
Anexo A: Matriz de consistencia.....	52
Anexo B: Instrumento	53
Anexo C: Data de los datos obtenidos en el desarrollo experimental	55
Anexo D: Cronograma del programa experimental	60
Anexo E: Testimonio fotográfico	61
Anexo F: Juicio de expertos	64

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Propiedades farmacológicas de algunos alcaloides.....	20
Tabla 2. Beneficios en enfermedades cardiovasculares de los compuestos fenólicos	21
Tabla 3. Operacionalización de variables	24
Tabla 4. Efecto antibacteriano in vitro frente a <i>Staphylococcus aureus</i> según método Ojeda ...	26
Tabla 5. Ensayo preliminar de la prueba de solubilidad del extracto etanólico de la <i>Mauria hetrophyllia</i> kunth	30
Tabla 6. Análisis fitoquímico del extracto etanólico de la <i>Mauria hetrophyllia</i> Kunth	31
Tabla 7. Lectura de porcentaje de efecto antibacteriana del extracto etanólico de <i>Mauria hetrophyllia</i> Kunth, sobre <i>Staphylococcus aureus</i> a las 24, 48 y 72 horas.....	32
Tabla 8. Lectura de formación de halos de inhibición según el porcentaje de efectividad de la concentración del extracto etanólico <i>Mauria hetrophyllia</i> Kunth	34
Tabla 9. Porcentaje de inhibición del extracto etanólico <i>Mauria hetrophyllia</i> Kunth según concentración. (Expresados en %)... ..	37
Tabla 10. Análisis de la varianza (ANOVA) de los efectos entre los halos de inhibición por extracto etanólico de <i>Mauria hetrophyllia</i> Kunth sobre cultivos de <i>Staphylococcus aureus</i> a las 24h. Unidireccional	38
Tabla 11. Análisis de la varianza (ANOVA) de los efectos entre los halos de inhibición por extracto etanólico <i>Mauria hetrophyllia</i> Kunth sobre cultivos de <i>Staphylococcus aureus</i> a las 48h. Unidireccional	39
Tabla 12. Análisis de la varianza (ANOVA) de los efectos entre los halos de inhibición por extracto etanólico <i>Mauria hetrophyllia</i> Kunth sobre cultivos de <i>Staphylococcus aureus</i> a las 72h. Unidireccional	40
Tabla 13. Prueba de hipótesis	42
Tabla 14. Prueba de hipótesis específica 1	43
Tabla 15. Prueba de hipótesis específica 2	45

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Árbol de <i>Mauria hetrophyllia kunth</i> (Tres hojas). Es un árbol aromático que puede medir hasta 6m. Fuente. Rojas (2015)	17
Figura 2. Estructura química de algunos alcaloides. Los alcaloides de encuentran en forma de sales y base. Fuente. Arango (2014).	20
Figura 3. Algunos ejemplos de compuestos fenólicos. Estructura de los compuestos fenólicos Fuente. Gimeno (2004)	22
Figura 4. Estructura química de flavonoles y flavonas. Fuente. Mauricio (2005).....	22
Figura 5. Porcentaje de efecto inhibitorio relativo de la Gentamicina vs. El extracto etanólico al 100% y 75 %. En las muestras procesadas por triplicado, los resultados de la Gentamicina que se usó como muestra control tuvo una suma promedio de 196 mm y un rango	36
Figura 6. Lectura de formación de los halos de inhibición según el porcentaje de efectividad de la concentración del extracto etanólico <i>Mauria hetrophyllia Kunth</i> al 75 % y 100% vs Gentamicina a las 24, 48, y 72h Fuente: Elaboración propia	41
Figura 7. Existe diferencia entre el extracto 100% y el agua destilada. Fuente Propia	42
Figura 8. Se puede observar la diferencia entre el extracto 100% y el extracto al 75%. Fuente Propia	44
Figura 9. El extracto etanólico de las hojas de <i>Mauria hetrophyllia kunth</i> (Tres hojas) tiene efecto significativo respecto a la gentamicina en el efecto antibacteriano in vitro frente a <i>Staphylococcus aureus</i> . Fuente Propia.	45

Resumen

La investigación tuvo como objetivo determinar el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de las hojas de *Mauria hetrophyllia kunth* (Tres hojas) frente a *Staphylococcus aureus*. El diseño fue experimental, prospectivo y transversal. Se recolectaron 1 kg de hojas, secadas en 5 días y por 3 días deshidratadas. Se maceraron 100 g de polvo de hojas de secas en 1L de etanol a 96% durante 10 días, se filtró y se eliminó el solvente en la estufa a 40 °C hasta obtener extracto seco. Para cultivar se usó el agar Mueller-Hinton, en autoclave a 121 °C y 15lb/pg por 15 minutos, se colocó a baño maría a 45°C y se adicionó tibio sobre las placas Petri enfriándose a temperatura ambiente, para la solubilidad se pesaron 5 mg de extracto seco colocados en tubos de ensayo, adicionando 1 ml de los solventes: agua, etanol, metanol, éter de petróleo, cloroformo, acetato de etilo benceno, se hizo una solución del extracto seco en agua destilada de 2mg/ml en varios tubos, usando los reactivos Bertrand, dragendorf, Warner, liberman, Fehling a y Fehling b, identificando sus metabolitos secundarios. Para la sensibilidad, se cultivó por diseminación homogénea en la placa Petri colocándose los discos de papel filtro estéril con el extracto, la gentamicina en el agar fue incubada. Conclusión: el extracto etanólico de *Mauria hetrophyllia* Kunth (tres hojas) demostró tener efecto antibacteriano para próximos estudios clínicos y frente a la gentamicina es la que presenta buenos resultados, demostrando tener los principios activos de la planta

Palabra claves: *Mauria hetrophyllia kunth*, *Staphylococcus aureus*, polvo de hoja, solubilidad.

ES PALABRAS CLAVE NO PALABRAS CLAVES

Abstract

The research aimed to determine the antibacterial effect in vitro of the ethanolic extract of the leaves of *Mauria hetrophyllia kunth* (Three leaves) against *Staphylococcus aureus*. The design was experimental, prospective and transversal. 1 kg of leaves were collected, dried in 5 days and dehydrated for 3 days. 100 g of dried leaves powder were macerated in 1L of 96% ethanol for 10 days, filtered and the solvent was removed in the oven at 40 ° C until obtaining a dry extract. To cultivate, Mueller-Hinton agar was used, autoclaved at 121 ° C and 15 lb / pg for 15 minutes, placed in a water bath at 45 ° C and lukewarm was added to the Petri dishes, cooling to room temperature, for solubility it was Weighed 5 mg of dry extract placed in test tubes, adding 1 ml of the solvents: water, ethanol, methanol, petroleum ether, chloroform, ethyl acetate benzene, a solution of the dry extract was made in distilled water of 2mg / ml in several tubes, using the Bertrand, Dragendorf, Warner, Liberman, Fehling a and Fehling b reagents, identifying their secondary metabolites. For sensitivity, it was cultivated by homogeneous dissemination in the Petri dish, the sterile filter paper discs were placed with the extract, the gentamicin in the agar was incubated. Conclusion: the ethanolic extract of *Mauria hetrophyllia Kunth* (three leaves) proved to have an antibacterial effect for future clinical studies and, compared to gentamicin, it is the one that presents good results, proving to have the active principles of the plant.

Key words: *Mauria hetrophyllia kunth*, *Staphylococcus aureus*, leaf powder, solubility.

Introducción

Las plantas en el Perú desde épocas ancestrales siempre han sido consideradas para el cuidado sanitario de sus habitantes, tanto en la ciudad como en provincia, se han buscado intensivamente en las plantas el alivio para sus dolores, de igual manera también busco en ellas la alimentación y protección.

La Organización Mundial de la Salud hace un estimado acerca del 70-80% de pobladores de naciones desarrolladas, han tenido la oportunidad de hacer uso de la medicina tradicional.

Las plantas contienen gran cantidad de compuestos de amplia diversidad y distintas funcionalidades, sus propiedades medicinales pueden provenir de cualquiera de sus partes ya sea: tallo, hojas, fruto, semillas, las cuales al utilizar métodos de extracción sea ya por arrastre a vapor, maceración, etc. Nos brindan sustancias químicas como: los metabolitos secundarios, principios activos que brindan propiedades terapéuticas.

El *Staphylococcus aureus* puede infectar al organismo humano en sitios como el tracto digestivo, piel, y faringe. La prevalencia en personas sanas colonizadas varía entre 12-30%, además causa infecciones frecuentes a nivel hospitalario y en comunidad, forma colonias con pigmentación dorada y dan positivo a la prueba de catalasa y coagulasa.

La Organización Mundial de la Salud hace una alerta sanitaria ante la resistencia a antibióticos por parte de bacterias, siendo las más comunes *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, siendo estas bacterias las que afectan en mayor prevalencia la salud de las personas.

La *Mauria hetrophyllia kunth* (tres hojas) en forma popular se utiliza para tratar problemas de hígado, dolor e inflamación de garganta y para infecciones de vías respiratorias, esta investigación permitirá analizar el efecto antibacterial in vitro del extracto etanólico de sus hojas de *Mauria hetrophyllia kunth* ante el *Staphylococcus aureus*.

La finalidad de esta investigación fue determinar su efecto antibacterial del extracto etanólico de las hojas de *Mauria hetrophyllia kunth* frente al *Staphylococcus aureus* por un estudio in vitro, buscando así su amplitud en mejores estudios para avances médicos, y así disminuir la resistencia con los antibióticos.

Capítulo I

Planteamiento del problema

1.1. Descripción de la realidad problemática

La Organización Mundial de la Salud (2018). Alerta de la resistencia a antibióticos de bacterias, entre los más comunes se tiene a *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* los mismos que constituyen graves consecuencias que perjudican la salud de las personas. El *Staphylococcus aureus* puede infectar al organismo humano en sitios como el tracto digestivo, piel y faringe: la prevalencia en personas sanas colonizadas varía entre 12 a 30%, además causa infecciones frecuentes a nivel hospitalario y en la comunidad, forma colonias con pigmentación dorada y da positivo a la prueba de coagulasa y catalasa Castañeda (2018). Se considera que los portadores nasales de *Staphylococcus aureus* son reservorios responsables de las infecciones comunitarias y hospitales, en particular *S. aureus* resistente a la meticilina (SARM), se ha observado hasta 50% en personal sanitario como uno de los portadores nasales bacterianos a nivel intrahospitalario. Arteaga (2018).

Consejo General de Colegios Oficiales Farmacéuticos (2019). Las plantas medicinales son usadas para prevenir o tratar enfermedades y contribuir en la mejora de la salud de cada persona, con la ventaja de ofrecer escaso efecto adverso comparado con la terapéutica convencional. Los fitofármacos cuyo uso racional, puede ser útil en las atenciones sanitarias y contribuye como buena herramienta terapéutica para cada profesional sanitario. Son 17 países que cuentan con gran diversidad de plantas medicinales en el mundo, de los cuales 8 países se encuentran en América Latina: Colombia, Brasil, Bolivia, Ecuador, Costa Rica, Venezuela, México y Perú, del total de plantas que habitan en el planeta sólo el 10% han sido abordadas científicamente con orientación terapéutica, y casi 15 mil plantas están en peligro de extinción. Organización Panamericana de la salud (2019).

La planta *Mauria hetrophyllia kunth* (Tres hojas) se encuentran en bosques secos desde Bolivia, Perú, Venezuela hasta Costa Rica. Rojas (2015). En forma popular se usa para tratar problemas del hígado, dolor e inflamación de garganta y para infecciones de las vías respiratorias. Llanos (2018). Esta investigación tuvo como propósito hacer una evaluación de las actividades antibacterianas in vitro del extracto etanólico de las hojas de *Mauria hetrophyllia kunth* (Alonco).

1.2. Formulación del problema

1.2.1. Problema general

¿El extracto etanólico de las hojas de *Mauria hetrophyllia kunth* (Tres hojas) tendrá efecto antibacteriano in vitro frente a *Staphylococcus aureus*?

1.2.2. Problemas específicos

¿Cuál será la concentración óptima del extracto etanólico de las hojas de *Mauria hetrophyllia kunth* (Tres hojas) que tendrá mejor efecto antibacteriano in vitro frente a *Staphylococcus aureus*?

¿El extracto etanólico de las hojas de *Mauria hetrophyllia kunth* (Tres hojas) tendrá efecto significativo respecto a la gentamicina en el efecto antibacteriano in vitro frente a *Staphylococcus aureus*?

1.3. Objetivos de la investigación

1.3.1. Objetivo general

Determinar el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de las hojas de *Mauria hetrophyllia kunth* (Tres hojas) frente a *Staphylococcus aureus*

1.3.2. Objetivos específicos

Identificar la concentración óptima del extracto etanólico de las hojas de *Mauria hetrophyllia kunth* (Tres hojas) que tiene mejor efecto antibacteriano in vitro frente a *Staphylococcus aureus*

Determinar si el extracto etanólico de las hojas de *Mauria hetrophyllia kunth* (Tres hojas) tiene efecto significativo respecto a la gentamicina en el efecto antibacteriano in vitro frente a *Staphylococcus aureus*

1.4. Justificación

Los patógenos bacterianos son las causas de mayor frecuencia de enfermedades transmitidas por alimentos originando problemas gastrointestinales (náuseas, vómitos, diarrea, fiebre, dolor) afectando algunas personas y originando complicaciones como meningitis, sepsis o muerte y según el reporte 1993-2010 de la Organización Panamericana de la Salud (OPS) indican que

el 69% de infecciones transmitidas por alimentos son causadas por bacterias, 9.7% por virus y 1,8% por parásitos el resto son por causas químicas. Soto (2016).

Entre las bacterias más comunes que afecta al organismo humano se encuentra el *Staphylococcus aureus*. Castañeda (2018)

El presente estudio es importante porque trata de buscar un tratamiento alternativo de origen natural a las infecciones causadas por *Staphylococcus aureus* que infecta a diversas partes del organismo en especial a la piel y tejidos blandos, a la vez la resistencia a los antibacterianos habituales está en aumento. Arteaga (2018). Se pretende contribuir con el mejor conocimiento de las propiedades terapéuticas de la planta *Mauria hetrophylia kunth* (Tres hojas) y brindar a la población y comunidad académica importante información sustentado mediante experimento in vitro que a futuro puede incorporarse en la terapéutica antiinfecciosa bacteriana en especial frente a *S. aureus*.

Capítulo II

Fundamentos teóricos

2.1. Antecedentes

2.1.1. Nacionales

Salazar (2018). Realizaron el estudio “Efecto cicatrizante y regenerativo de los geles tópicos elaborados a base del extracto seco de las hojas de *Mauria hetrophyllia* H.B.K. (tres hojas) en *Rattus var. albinus*”. Para el estudio experimental usaron 46 ratas distribuidos en 6 grupos a las cuales indujeron heridas incisas y elaboraron geles tópicos al 5% y 10% del extracto seco de hojas de *Mauria hetrophyllia*. El tratamiento fue dos veces por día (cada 12 horas) por 20 días, al finalizar realizaron la prueba de resistencia de tensión de las heridas. Hallaron que el gel al 10% mostró resistencia media de tensión de 132,14 mL, seguido del gel 5% y Cicatricure® el cual fue significativo entre los grupos de tratamiento ($p < 0.05$), el estudio histológico confirmó el efecto cicatrizante y reparación de tejidos. Concluyen que el extracto seco de hojas de *Mauria hetrophyllia* tiene efecto cicatrizante en ratas y podría ser alternativo en la terapéutica de tratamiento de heridas.

Vásquez (2018). Realizó el estudio “Evaluación del efecto antibacteriano del extracto metanólico de uña de gato sobre patógenos orales: *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) y *Fusobacterium nucleatum* (ATCC 25586)”. Para el experimento in vitro usó la metodología difusiva en agar y en la búsqueda de la CMI se trabajó por la metodología para dilución en caldo (medio Brain Heart infusión Broth –BHI) y para hacer la evaluación del efecto citotóxico se realizó mediante ensayo colorimétrico de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-2,5-difeniltetrazolio bromuro (MTT). Hallaron que la uña de gato (*Uncaria tomentosa*) mostró para el *S. aureus* halos de inhibición de 31,3 mm. La acción de controlar positivamente se dio mediante la Clorhexidina 0.12% (59.1 mm). Frente a *F. nucleatum* no mostró efecto inhibitorio. La CMI para *S. aureus* fue 0.0016 mg/mL y la viabilidad del extracto de uña de gato se mantuvo con valores altos (16000 mg/mL), se evidenció efecto citotóxico. Concluyen que la uña de gato tiene efecto frente a *S. aureus* y sugieren mayor investigación para validar este efecto.

Ribotty (2018). Realizó su tesis sobre “Efecto in vitro del extracto acuoso de *Allium sativum* (ajo) sobre cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a la meticilina”. Usaron cepas de *S. aureus* resistentes a la meticilina sembradas en placas por método de pozos y discos de difusión. Hallaron que el extracto acuoso del ajo mostró halos de inhibición dependiente de la concentración, al 25% (9,9 mm); al 50% (15,2 mm); al 100% (19,5%). Por el método del pozo

se halló los halos al 25% (10,9 mm), al 50% (15,0 mm) y al 100% (22,5 mm). Concluyen que el extracto acuoso de *Allium sativum* tuvo actividad antibacteriana frente a *S. aureus* que mostraron resistencia a meticilina.

Páucar (2017). Realizó su estudio “Eficacia antibacteriana in vitro del alumbre napolitano sobre *Staphylococcus aureus* y *Pseudomona aeruginosa*”. El alumbre napolitano lo obtuvieron de herbolaria comercial y prepararon con cierta concentración de 25, 50, 75 y 100%, luego se colocaron en disco de papel de filtro, las cepas de *S. aureus* y *P. aeruginosa* se colocaron en placas, el control positivo fue con NaCl 0-9% de piperacilina/tazobactam 4/0.5 mg. La medición de los halos fue a las 48 horas. Los halos de inhibición en concentración al 100% para *S. aureus* fue 18,7 mm; al 75% frente a *P. aeruginosa* fue 15,0 mm. El control positivo mostró halos de 68,2 mm y 65,6 mm respectivamente. Concluyen que el alumbre napolitano presentó mejor efecto en la concentración del 100% frente a *S. aureus* y 75% frente a *P. aeruginosa*.

Mantilla (2018). Realizó su investigación sobre la “Determinación del efecto antibacteriano del aceite esencial del fruto *Citrus paradisi* (Tangelo) frente a *Staphylococcus aureus* in vitro”. El aceite esencial lo obtuvieron al arrastrar ciertos vapores, que permitieron la evaluación del efecto antibacteriano usando diferente porcentaje de concentración de 25%, 50% y 75%, el control positivo fue con Vancomicina 500 mg inyectable, el medio para cultivar usado fue Mueller-Hinton, emplearon la metodología del antibiograma Kirby Bauer en 30 placas Petri e incubaron a 37 °C durante 48 horas. Hallaron que la concentración al 25% mostró mayor efecto antibacteriano y formó halos de 1.8 mm, en las concentraciones de 50% y 75% disminuyó el efecto probablemente por evaporación del aceite. Concluyen que el aceite del fruto de Tangelo tiene mejor actividad frente a *S. aureus* al 25% y atribuyeron el efecto a los flavonoides presentes en el aceite esencial.

2.1.2. Internacionales

Alfaro (2018) Realizó el estudio “Efecto antibacteriano in vitro del extracto acuoso de *Schinus molle* (molle) sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923”. Determinó la concentración mínima inhibitoria (CMI) y la concentración mínima bactericida (CMB). El estudio fue experimental. Por método de micro dilución se determinó el efecto antibacteriano. Por método de ebullición obtuvieron el extracto acuoso. La cepa de *S. aureus* fue activada en Caldo Mueller-Hinton. Evaluaron 10 concentraciones porcentuales del extracto del molle, el control fue con solución salina normal y control positivo con penicilina 10 UI. Hallaron que el CMI fue al 40% y la

CMB fue al 60%, la diferencia fue significativa entre los grupos de tratamiento. Concluyen que el extracto acuoso del molle presentó efecto antibacteriano frente a *S aureus*.

Ojeda (2018) Realizó el estudio “Efecto antimicrobiano in vitro de los extractos de *Allium sativum* y *Zingiber officinale* frente a *Staphylococcus aureus*”. El estudio fue experimental, usaron oxacilina como control positivo y como control negativo solución salina normal 0.9%. Usaron concentraciones de ajo y jengibre a 25%, 50% y 100%. Usaron agar Mueller-Hinton para cultivar los *S. aureus* mediante método de disco, difusión Kirby-Bauer, los halos formados se midieron con vernier. Observaron que los halos para el ajo y jengibre fueron 12.7 mm y 6.7 mm respectivamente ($p < 0.05$) en concentración del 100%. Concluyen que el extracto de ajo mostró mejor efecto frente a *S. aureus*.

Montero (2018) Elaboró el estudio “Eficacia antimicrobiana del aceite esencial de tomillo (*Thymus vulgaris*) sobre una cepa de *Staphylococcus aureus*”. Prepararon diversas concentraciones del extracto del tomillo; 1%, 5%, 10%, 30%, 50%, 70% y 90% diluido en etanol 96%, determinaron la CMI mediante la metodología de dilución en caldo. El *S aureus* se estandarizó a 0.5 según escala de MacFarland en espectrofotómetro. Hallaron que la concentración al 1% no mostró turbidez. La Concentración Bactericida Mínima (CBM) mediante agar Mueller-Hinton no observaron crecimiento de colonias. Los halos de inhibición al 5% y 10% fueron 15,35 mm y 15,9 mm respectivamente y al 1% fue 12.2 mm ($p < 0.05$). Concluyen que la CBM fue 1% el cual impidió el crecimiento de colonias y las concentraciones 30% y mayores inhibieron en su totalidad el crecimiento bacteriano de *S aureus*.

2.2. Bases teóricas

Clasificación taxonómica de *Mauria hetrophyllia kunth* (Tres hojas)

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Subclase: Asteridae

Orden: Asterales

Familia: Anacardiaceae

Género: *Mauria*

Especie: *Mauria hetrophyllia Kunth*

Características generales de *Mauria hetrophyllia kunth* (Tres hojas)

La planta *Mauria hetrophyllia kunth* (Tres hojas) crece en climas templados en zonas quebradas, bordes de carretera, laderas, lugares boscosos y cerros colinosos ubicado entre 1500 a 3200 msnm. Castillo (2017). Es un árbol aromático, puede alcanzar en promedio hasta 6 metros de

altura, sus hojas son pecioladas, alternas, compuestas, trifolioladas, foliolos elípticos u ovoides, son enteros y brillantes en el haz y epidermis, sus flores son pequeñas de color blanco cremoso o verde amarillento. Crece en climas que varía entre 5 a 24 °C y humedad entre 65 a 90% y se ubica en Cajamarca, Amazonas, La Libertad, Tumbes o Piura.



Figura 1. Árbol de *Mauria hetrophyllia kunth* (Tres hojas). Es un árbol aromático que puede medir hasta 6m. Fuente. Rojas (2015)

Usos medicinales de *Mauria hetrophyllia kunth* (Tres hojas)

Las hojas y cortezas se emplean para tratar enfermedades hepáticas, en forma de gargarismo se usa para control del dolor e inflamación de la garganta y para tratamiento de infecciones de las vías respiratorias. En forma de cataplasma se usa para curar heridas abiertas, las hojas y corteza se suelen masticar para tratar dolor de dientes, desinflamar las encías, curar la caries y preservar la dentadura en buen estado. Se usan hojas para la infusión, con 20 gramos diluidos en un litro de agua, luego administrar 4 veces por día y para tratar las heridas 30g en un litro de agua en forma de cocimiento por un período de diez minutos. Así mismo la corteza se usa para teñir la ropa de color rojo a marrón claro. Las hojas también se usan como alimento de ganado vacuno. Llanos (2018).

Género Staphylococcus

Los Staphylococcus caracterizados por ser cocos Gram positivos, presenta catalasa de valor positivo y el diamino ácido en el peptidoglicano L-lisina, crecen entre un pH de 4.8 a 9.4 y a temperatura de 25 a 42 °C, este género posee un alrededor de 30 especies. Entre ellas *S. aureus*, *S. auricularis*, *S. epidermidis*, *S. saprophyticus*. Mostaser (2004).

Staphylococcus aureus

Staphylococcus aureus, conocido como bacteria Gram positiva, al examen microscópico se observa como formaciones de cocos en racimos. En cuanto a las pruebas fenotípicas, se caracteriza por formar colonias con una pigmentación dorada y resultado positivo de coagulasa y catalasa. Puede ser flora comensal del cuerpo humano, en sitios como piel, faringe y tracto digestivo, con una prevalencia que va desde un 12% hasta 30% de personas sanas colonizadas. Sin embargo, este patógeno es, además, una causa frecuente de infecciones asociadas al hospital (AH), así como adquiridas en la comunidad (AC). Esta bacteria ocasiona varios tipos de infecciones que afectan piel, tejidos blandos, hueso articulaciones, además de aquellas que se presentan en pacientes con prótesis o catéteres. Castañeda (2018).

Staphylococcus aureus representa un patógeno ampliamente diseminado e invasivo que causa clínicamente enfermedades infecciosas importantes y potencialmente mortales. Dado que *S. aureus* coloniza el 30% o más de todos los humanos, principalmente los vestíbulos de la cavidad nasal, el riesgo de infecciones posteriores que se originan de la propia flora de los pacientes aumenta significativamente. *S. aureus* resistente a meticilina (MRSA) asociado a la comunidad drásticamente agrava el tratamiento al limitar las opciones terapéuticas, lo que resulta en morbilidad, mortalidad y costos adicionales. Resistencias también surgió contra las clases de antibióticos restantes o recientemente desarrolladas con actividad anti-MRSA como glucopéptidos, oxazolidinonas, lipopéptidos cíclicos y cefalosporinas anti-MRSA, a menudo en breve después de su introducción. Estrategias actuales para prevenir las infecciones nosocomiales de *S. aureus*, particularmente aquellos debido a MRSA, se basan frecuentemente en la aplicación tópica del antibiótico agente mupirocina, pero un número considerable de pacientes muestran recolonización. Las razones incluyen su modo de acción bacteriostático y la creciente emergencia de resistencia contra esta sustancia. Schleimer (2019).

Producción de toxinas por *Staphylococcus aureus*

S. aureus tiene la capacidad de dañar cada membrana celular de los hospederos. Estas toxinas citolíticas presentan poros β -barril en cada membrana citoplásmica, desencadenando en su libertad vaciando sus contenidos y provocando la muerte celular. Secreta varias toxinas que forman poros, tales como α -hemolisina, β -hemolisina, γ -hemolisina, leucocidina y la leucocidina PVL (Panton-Valentine). La α -hemolisina presenta un código formado por el gen *hla* y, al liberarse en el medio, forman una asociación con células blancas, debido a su acción mecánica que depende de algún receptor específico o que favorece la presencia de colesterol. Esta proteína monomérica se asocia con cada célula eucariota oligomeriza en un β -barril formando un poro, provocando el efecto de la lisis celular. La α -hemolisina es muy citotóxica afectando diversas células eucariotas, siendo las más comunes las del sistema inmunológico y por este motivo es considerado como una puerta de entrada de diversos virus. Sepúlveda (2014).

Epidemiología de *Staphylococcus aureus*

Casi el 25 a 35% de habitantes en el mundo (dos mil millones de individuos) podrían estar infectados con el *Staphylococcus aureus* actuando principalmente sobre sus pieles y mucosa. Se estima que casi 28,4 casos por cada 100.000 personas de todas las edades, entre niños y adultos, han sido infectados en diferentes estadios de gravedad por el *Staphylococcus aureus*. Se tiene conocimiento de que una exposición previa a los antimicrobianos actúa poniendo en riesgo la adquisición de cepas de *S. aureus* metilín-resistentes. Casellas (2011).

Principales constituyentes químicos de la planta

Alcaloides

Los alcaloides tienen característica básica, su solubilidad depende del pH, es decir si se encuentra en forma de sales o bases. Si se encuentra en forma de base es soluble en solventes orgánicos como éter etílico, benceno, diclorometano, cloroformo acetato de etilo. Si está en forma de sal, es soluble en solventes polares como el agua, soluciones hidroalcohólicas o ácidas. Arango (2008). Los alcaloides tienen estructura química muy variada, en la figura 2 se muestra algunos núcleos de alcaloides.

A los alcaloides se le atribuyen diversas propiedades biológicas, en tabla 3 se muestra propiedades farmacológicas de algunos alcaloides.

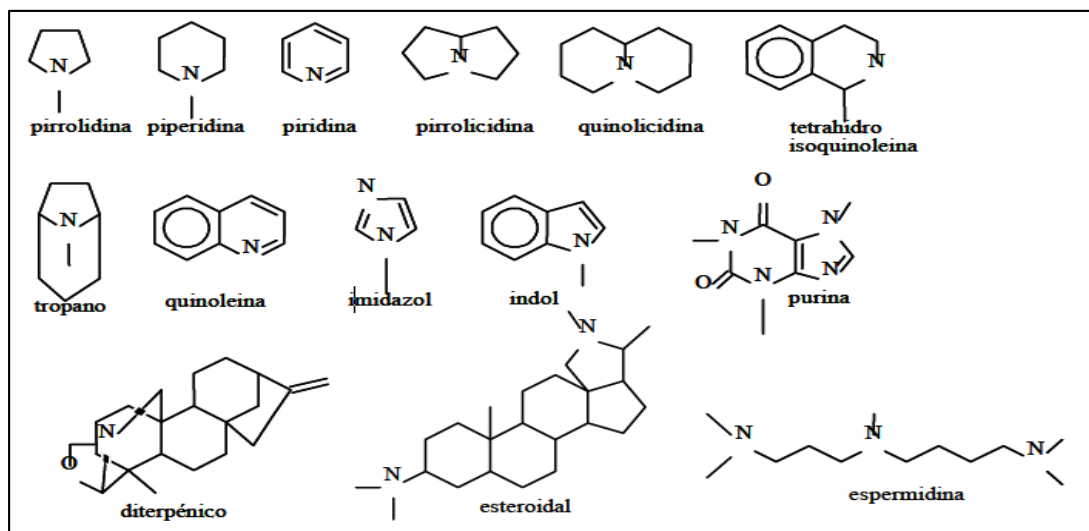


Figura 2. Estructura química de algunos alcaloides. Los alcaloides de encuentran en forma de sales y base. Fuente. Arango (2014).

Tabla 1:
Propiedades farmacológicas de algunos alcaloides

ALCALOIDE	ACTIVIDAD FARMACOLOGICA	PLANTA DE DONDE SE AISLÓ
Anonaína	Antimicrobiano	<i>Annona muricata</i>
Berberina	Antimicrobiano	<i>Coptis japonica</i>
Codeína	Analgésico narcótico, Antitusígeno	<i>Argemone mexicana</i>
Colchicina	Disruptivo muscular	<i>Colchium autumnale</i>
Emetina	Parasiticida	<i>Uragoga ipecacuana</i>
Liriodenina	Antimicrobiana, Anticancerígeno	<i>Annona diversifolia</i>
Morfina	Analgésico narcótico	<i>Papaver somniferum</i>
Noscapina	Antiespasmódico, Potencial antineoplásico	<i>Papaver somniferum</i>
Papaverina	Vasodilatador	<i>Papaver somniferum</i>
Sanguinarina	Antimicrobiano	<i>Sanguinaria canadiensis</i>
(+)-Tubocurarina	Bloqueador muscular	<i>Chondodendron tomentosum</i>
Tetrandrina	Bloqueador de canales de Ca ²⁺	<i>Stephania tetandra</i>

Actividad farmacológica según los alcaloides. Fuente. De la Cruz (2012).

Compuestos fenólicos

Son un grupo de compuestos químicos presentes en las plantas, forman parte importante de la dieta humana, en su clasificación encontramos a los fenoles, flavonoides y ácidos fenólicos de variadas estructuras químicas y propiedades como antioxidantes, anticancerígenas, problemas cardiovasculares y enfermedades de carácter inflamatorio. Porras (2009). Los fenoles se producen por síntesis del novo en las plantas y son regulados por genes y factores ambientales, actúan como fitoalexinas, es decir para defenderse de posibles infecciones bacterianas o

fúngicos, contribuyen a la pigmentación de diversas partes de la planta. Los compuestos fenólicos son un grupo de compuestos químicos muy grande, muchos aún no han sido identificados, ejercen diversas propiedades biológicas como actividad estrogénica (fitoestrógenos) como los lignanos, isoflavonas, estilveno, resveratrol y otras con propiedades antiartríticas, antibacterianas, entre otros. Se ha descrito que los flavonoles tienen mejor actividad antioxidante. En la tabla 2 se aprecia los beneficios de los compuestos fenólicos en enfermedades cardiovasculares. Gimeno (2004).

Tabla 2.
Beneficios en enfermedades cardiovasculares de los compuestos fenólicos

Nº	Beneficio
1	Disminución de la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad (LDL)
2	Disminución del proceso inflamatorio en la placa de ateroma
3	Inhibición de la agregación plaquetaria
4	Estimulación de la síntesis del óxido nítrico
5	Estabilización de las fibras de colágeno de la pared arterial
6	Actuación como fitoestrógenos (isoflavonas y lignanos)

Propiedades farmacológicas. Fuente. Gimeno (2004)

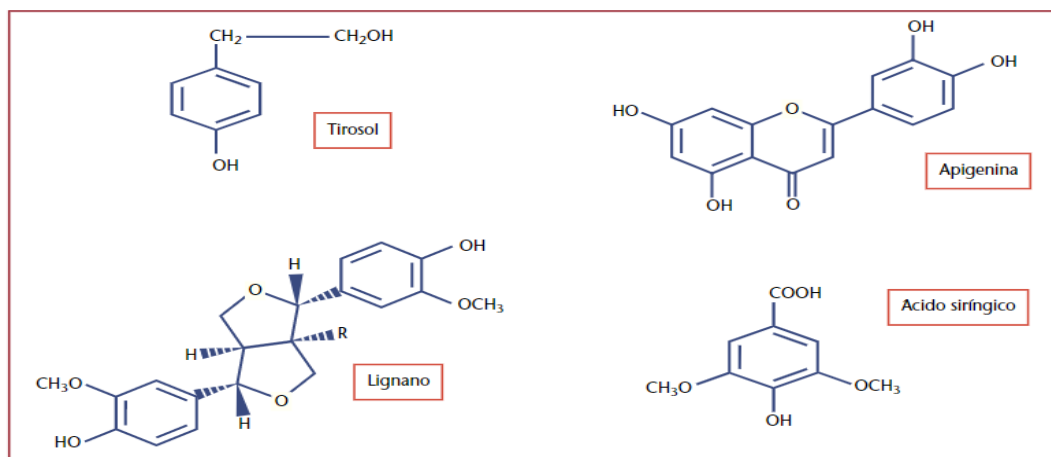


Figura 3. Algunos ejemplos de compuestos fenólicos. Estructura de los compuestos fenólicos Fuente. Gimeno (2004)

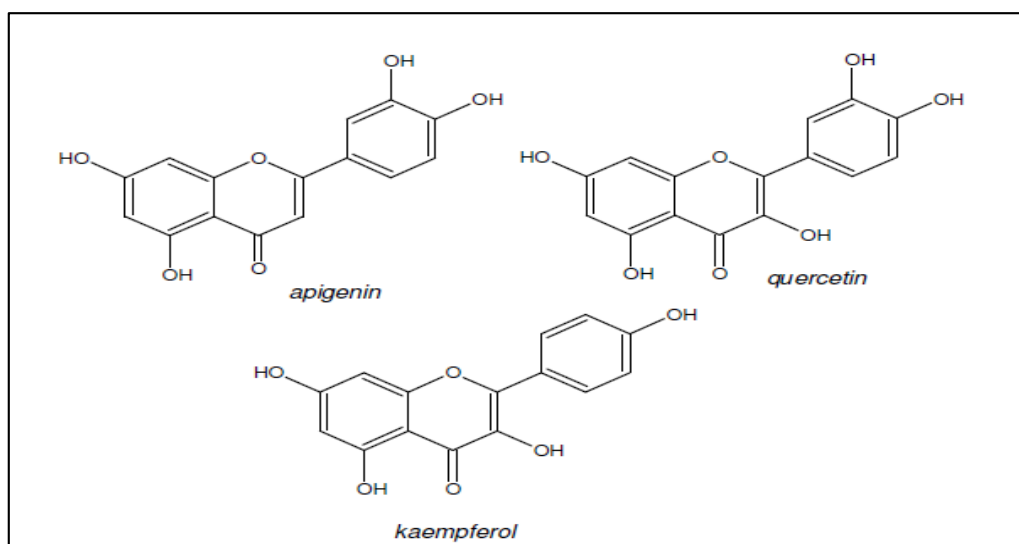


Figura 4. Estructura química de flavonoles y flavonas. Fuente. Mauricio (2005)

2.3. Marco conceptual

1. Cultivo microbiológico: Condiciones físicas, químicas y nutritivas adecuadas para que puedan multiplicarse de forma controlada los microorganismos. Schleimer (2019)
2. Droga Vegetal: Es todo producto natural utilizado en terapéutica y no sometido a ninguna preparación farmacéutica. Puede tratarse de una planta entera o parte de una planta. Mauricio (2014).
3. Antibiograma. Son reportes de test de susceptibilidad a los agentes antimicrobianos. Sepúlveda (2014).

4. Antimicrobiano. Molécula natural (producida por un organismo vivo, hongo o bacteria), sintética o semisintética, capaz de inducir la muerte o la detención del crecimiento de bacterias, virus u hongos. Schleimer (2019)
5. Alcaloides. Compuesto nitrogenado, carácter básico, toxicidad variada de origen animal o vegetal. Arango (2008).
6. Taninos. Compuestos complejos, hidroxilados, masa molar elevada, sabor astringente de origen vegetal. Arango (2008).
7. Interleucinas. Compuesto proteico, elabora leucocitos, regula la repuesta inmunitaria, los de síntesis suelen emplearse para tratamiento del cáncer. Mostasero (2005).
8. Prostaglandinas. Compuestos de naturaleza lipídica, regulan diversas funciones como las alergias e inflamaciones. Soto (2016).
9. Antioxidantes. Compuestos que inhiben o contrarrestan compuestos oxidantes. Arango (2018).
10. Cepas ATCC. Material biológico de referencia certificado por American Type Culture Collection. Rockville, EU. Schleimer (2019).

2.4. Hipótesis

2.4.1. Hipótesis general

1. El extracto etanólico de las hojas de *Mauria hetrophyllia kunth* (Tres hojas) tiene efecto antibacteriano in vitro frente a *Staphylococcus aureus*

2.4.2. Hipótesis específicas

1. La concentración óptima del extracto etanólico de las hojas de *Mauria hetrophyllia kunth* (Tres hojas) que tiene mejor efecto antibacteriano in vitro frente a *Staphylococcus aureus* es entre 75 y 100%
2. El extracto etanólico de las hojas de *Mauria hetrophyllia kunth* (Tres hojas) tiene efecto significativo respecto a la gentamicina en el efecto antibacteriano in vitro frente a *Staphylococcus aureus*.

2.5. Operacionalización de variables

Tabla 3
Operacionalización de variables

Variables	Definición operacional	Dimensión o aspecto	Indicadores
Independiente Extracto etanólico de las hojas de <i>Mauria hetrophylla kunth</i> (Tres hojas)	Los metabolitos secundarios hallados en extractos de plantas tienen variados efectos biológicos que son aprovechados por la población en general para prevenir o tratar diversos problemas de salud entre ellos efecto sobre enfermedades infecciosas causadas por bacterias	Metabolitos secundarios Prueba de solubilidad	Compuestos fenólicos, flavonoides, leucoantocianidinas, alcaloides, taninos, esteroides y/o triterpenoides, aminoácidos, azúcares reductores Agua, etanol, metanol, acetona, cloroformo, acetato de etilo, n-butanol
Dependiente: Efecto antibacteriano in vitro frente a <i>Staphylococcus aureus</i>	Los ensayos pre clínicos in vitro son bastantes usados en investigaciones médicas para dar sustento científico de una nueva molécula sobre alguna enfermedad específica.	Formación de halos de crecimiento bacteriano Concentración del extracto	% de halos de inhibición 25%, 50%, 75%, 100%

Tabla de determinación de variable, sus dimensiones e indicadores Fuente: Elaboración propia

Capítulo III

Metodología

3.1. Tipo y nivel de investigación

- Estudio es de tipo experimental ya que se manipuló la variable independiente (causa – efecto) y se trabajó con grupos controles (control positivo y negativo).
- Es observacional y prospectivo porque se apreciaron los resultados conforme transcurre el experimento.
- El enfoque es cuantitativo porque se realizaron mediciones de los halos formado en los tiempos establecidos (18 y 24 horas).

3.2. Descripción del método y diseño

Recolección de las hojas de *Mauria hetrophyllia kunth* (Tres hojas)

Las hojas de *Mauria hetrophyllia kunth* (Tres hojas) se recolectaron en la provincia de Satipo, departamento de Junín ubicado a 628 msnm. Se recolectarán 1 kg de hojas, los mismos que fueron desprovistos del polvo con la ayuda de escobilla de finas cerdas, se colocaron en cajas de cartón y fueron embalados para luego ser trasladados a la ciudad de Lima a los laboratorios de la Universidad Interamericana para el Desarrollo.

Así mismo se recolectaron muestras de planta para poder clasificar de manera taxonómica en el Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

Preparación del extracto etanólico de las hojas de *Mauria hetrophyllia kunth* (Tres hojas) (Método CYTED 2001). Cytel (2001)

Las hojas frescas se colocaron a la estufa marca Memmert a 40 °C durante 3 días para el deshidratado. Por maceración se extrajeron los metabolitos secundarios, para ello se maceraron 100 g de polvo de hojas secas en 1 L de etanol 96% durante 10 días a temperatura ambiente en frasco ámbar con agitación cada 12 horas.

Luego se filtró y se eliminó el solvente en la estufa a 40 °C para obtener un extracto seco, el mismo que se pesó y colocó en frasco protegido de la luz y la humedad y se almacenó en refrigeración hasta su uso.

Prueba de solubilidad y marcha fitoquímica (Lock O., 2016)

Prueba de Solubilidad

Se pesaron 5 mg de extracto seco, se colocaron con la ayuda de una varilla de vidrio en el fondo de diferentes tubos de ensayo, para observar la solubilidad se adicionó 1 mL de los siguientes solventes de diferente polaridad:

Agua, etanol, metanol, acetona, cloroformo, acetato de etilo, n-butanol.

Tamizaje Fitoquímico

Se preparó una solución del extracto seco en agua destilada de 2 mg/mL, luego se agregó 1 mL en diferentes tubos de ensayo, enseguida se añadieron cinco gotas de reactivos específicos para identificar los metabolitos secundarios mediante reacciones de color y precipitación:

Bertrand, Dragendorf, wagner	Alcaloides
Tricloruro de aluminio, shinoda	Flavonoides
Tricloruro férrico 1 %	Compuestos fenólicos y/o taninos
Gelatina en cloruro de sodio	Taninos
Liebermann – Burchard	Esteroides y/o triterpenoides
Fehling a y Fehling B	Azúcares reductores
Ninhidrina	Aminoácidos

Determinación del efecto antibacteriano in vitro frente a *Staphylococcus aureus* (Método Ojeda 2018)

A partir del extracto seco se prepararon 4 concentraciones (25%, 50%, 75% y 100%).

Tabla 4

Efecto antibacteriano in vitro frente a *Staphylococcus aureus* según método Ojeda

Concentración	Peso del extracto seco	Solvente (agua)	Volumen final
25%	1.25 mg	3.75 mL	5 mL
50%	2.50 mg	2.50 mL	5 mL
75%	3.75 mg	1.25 mL	5 mL
100%	5.00 mg	0.00 mL	5 mL

Los discos de sensibilidad se preparan a partir de papel Wttman N° 4, embebidos con 100 uL de cada muestra tanto del extracto en sus cuatro concentraciones, la gentamicina (10 ug) y el control negativo NaCl 0.9%. Fuente: Elaboración propia

Como medio de cultivo se usó agar Mueller-Hinton el mismo que se preparó según indicaciones del fabricante, se autoclava a 121 °C y 15 lb/pg² por 15 minutos, luego se colocó en Baño María

a 45 °C y se adicionó tibio sobre las placas Petri con un fondo aproximado de 4 mm y se dejó enfriar a temperatura ambiente.

En 10 mL de NaCl 0.9% se disolvieron las colonias de *Staphylococcus aureus* hasta obtener turbidez similar a la escala de MacFarland (tubo 1) el cual correspondería a concentración de 3×10^8 ufc/mL. A partir de esta solución se realizó disolución 1 en 3 en el cual se obtuvo concentración de 1×10^8 ufc/mL.

Los discos de sensibilidad se prepararon a partir de papel Wttman N° 4, los mismos que fueron embebidos con 100 uL de cada muestra tanto del extracto en sus cuatro concentraciones, la gentamicina (10 ug) y el control negativo NaCl 0.9%. Los discos se colocaron sobre el agar a 15 mm del borde de la placa, luego se incubaron a 37 °C durante 24 horas, cada placa se colocó de manera contraria.

Los halos formados se midieron con la ayuda del instrumento Vernier a las 18 y 24 horas, luego se calculó el porcentaje de inhibición como se indica:

$$\% \text{ Inhibición} = \frac{\text{Diámetro de la muestra}}{\text{Diámetro del control}} \times 100$$

Materiales, equipos y reactivos

a. Materiales

Beacker de vidrio de 100 mL
Algodón CKF 500 g
Gasa Médica 20 x 20 cm
Papel de filtro whatman N° 40
Varilla de vidrio
Gotero de plástico
Frasco de vidrio color ámbar de 2 L
Fuente de vidrio Pírex
Guantes de látex descartable
Mascarilla descartable
Gorro descartable
Pipeta de vidrio 1 mL, 2 mL, 5 mL y 10 mL
Micropipeta 10 a 100 uL
Propipeta de goma
Mortero y pilón de porcelana
Espátula de metal

Tubos de ensayo de vidrio 13 x 100 mL
Probeta de 100 mL
Cocinilla eléctrica
Hisopos
Placas Petri estéril
Espátula Drigalsky
Pinza estéril

b. Equipos

Balanza analítica
Balanza triple brazo
Estufa marca Memmert
Campana extractora
Molino casero

c. Reactivo

Acetato de etilo (líquido)
Agua destilada (líquido)
Benceno (líquido)
Cloroformo (líquido)
Etanol 96% (líquido)
n-butanol (líquido)
n. Hexano (líquido)
Metanol (líquido)
Mayer (líquido)
Draguendorff (líquido)
Tricloruro férrico 2% (solución)
Gelatina más cloruro de sodio 1% (solución)
Fehling A y Fehling B (líquido)
Tricloruro de aluminio 1% (líquido)
Shinoda (líquido)
Ninhidrina 1% (solución)
Liebermann – Burchard (líquido)
Gentamicina inyectable

Extracto etanólico de hojas de *Mauria hetrophyllia kunth* (Tres hojas)

3.3. Población y muestra

Población vegetal: Planta de *Mauria hetrophyllia kunth* (Tres hojas)

Población microbiológica: Cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Muestra

Muestra vegetal: Extracto etanólico de hojas de *Mauria hetrophyllia kunth* (Tres hojas)

Muestra microbiológica: Número de colonias bacterianas de igual medida y aspecto morfológico.

3.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

La técnica fue la observación directa

Cada instrumento fue elaborado de modo Ad hoc, se usaron fichas de observaciones. Las tablas se hicieron de forma manual como el ensayo de la solubilidad y el ensayo preliminar de la marcha fitoquímica.

3.5. Técnicas de procesamiento y análisis de datos

Para analizar los resultados se empleó el software para estadística SPSS. Se realizó el análisis ANOVA, las diferencias estadísticas fueron calculadas mediante la prueba de Tukey, el nivel de significancia será del 95% ($p < 0.05$). Los datos se presentaron en tablas y gráficas.

Capítulo IV

Presentación y análisis de los resultados

4.1. Presentación de resultados

Ensayo Preliminar de la Solubilidad

Tabla 5

Ensayo preliminar de la prueba de solubilidad del extracto etanólico de la *Mauria hetrophyllia kunth*

	SOLVENTE	SOLUBILIDAD
1.	Agua (H ₂ O)	-
2.	Etanol	+++
3.	Metanol (CH ₃ OH)	++
4.	Cloroformo (HCl ₃)	-
5.	N-butanol (C ₄ H ₁₀ O)	+++
6.	N-hexano	-
7.	Acetato de etilo	-

Leyenda: Muy soluble (+++), Soluble (++), Poco soluble (+), Insoluble (-)

Se observa la solubilidad del extracto de etanólico de las hojas de *Mauria hetrophyllia kunth* frente a los siguientes solventes Fuente: Elaboración propia

El extracto etanólico de las hojas de *Mauria hetrophyllia kunth* fue soluble con los siguientes reactivos el etanol y n-butanol que es lo que se puede observar en la tabla 5

Ensayo Preliminar de la Marcha Fitoquímica

Tabla 6.

Análisis fitoquímico del extracto etanólico de la *Mauria hetrophylla* Kunth

Reactivo	Metabólico secundario	Resultado
Bouchamdoit	Esteroides y triterpemoides	+
Gelatima 2%	taninos	++
Rosenheim	leucoantocianinas	+++
Fe cl3 5%	compuesto femoles	+++
Shimoda	flavonoides	+
Bertrand	alcaloides	++
Mayer	alcoloides	+
Wagner	alcaloides	+
Dragenforf	alcoloides	++
Ninhidrima	aminoacidos	-
Fehling A, B	azucars reductores	++
Moliseh	azucars reductores	+
Blanca	-	-

La solución del extracto en tubos de ensayos, se añade cinco gotas de reactivos para identificar la variedad de metabolitos en los cuales destacan los alcaloides, azucars reductores, leucoantocianinas, compuestos fenoles y los demás metabolitos con ausencia, menor presencia.

Leyenda:(-) Ausencia, (++) Presencia, (+++) Abundancia Fuente. Elaboración propia

Se preparó una solución del extracto seco en agua destilada de 2mg/ml, luego se agregó 1 ml en 13 tubos de ensayos, enseguida se añadieron cinco gotas de reactivos para identificar los siguientes metabolitos, en el análisis fitoquímico, se pudo observar variedades de metabolitos en los cuales destacan los alcaloides, azucars reductores, leucoantocianinas, compuestos fenoles y los demás metabolitos con ausencia, menor presencia.

Ensayo del efecto antibacteriano de in vitro del extracto etanólico de la *Mauria hetrophylla* kunth frente al *stphylococcus aureus*

Tabla 7
Lectura de porcentaje de efecto antibacteriana del extracto etanólico de *Mauria hetrophyllia* Kunth, sobre *Staphylococcus aureus* a las 24, 48 y 72 horas.

Concentración	Placa Petri	Tiempo (horas)		
		24h	48h	72h
25 %	1	+++	+++	+++
	2	+++	+++	+++
	3	+++	+++	+++
50 %	1	++	+++	++
	2	+++	++	+++
	3	+++	+++	++
75 %	1	+	+	+/-
	2	+	+/-	+/-
	3	+/-	+	+
100 %	1	+/-	+/-	-
	2	+/-	-	-
	3	-	-	-

En las diferentes concentraciones se observó evidencia de la formación de los halos de inhibición muy notorios, demostrando el efecto antibacteriano que posee el extracto etanólico *Mauria hetrophyllia* Kunth

Fuente: Elaboración propia

Como se observa en la tabla 7, se presentan los resultados obtenidos del crecimiento de *Staphylococcus aureus* a las 24, 48 y 72 horas en las diferentes placas Petri que se realizaron por triplicado para una mejor apreciación del estudio, Cada placa contiene una determinada concentración del extracto etanólico.

El extracto etanólico *Mauria hetrophyllia* Kunth, a una concentración al 25% a las 72h no presento actividad antibacteriana significativa, ya que se observó crecimiento bacteriano muy abundante, de la misma manera a una concentración al 50% a las 72h presentó crecimiento abundante de la bacteria y no se evidenció formación del halo de inhibición.

A una concentración al 75% a las 24h se observó escaso crecimiento bacteriano, a las 48 y 72h no se observó cambio significativo, pero si se evidenció formación tenue del halo de inhibición.

A una concentración al 100% a las 24h se observó escaso crecimiento bacteriano, a las 48 y 72 h se observó evidencia de la formación de los halos de inhibición muy notorios, demostrando el efecto antibacteriano que posee el extracto etanólico *Mauria hetrophylla* Kunth

Tabla 8

Lectura de formación de halos de inhibición según el porcentaje de efectividad de la concentración del extracto etanólico *Mauria hetrophylla* Kunth

Concentración del extracto	Lectura									Σ	Promedio (mm)
	24 horas			48 horas			72 horas				
	Lectura 1 (mm)	Lectura 2 (mm)	Lectura 3 (mm)	Lectura 1 (mm)	Lectura 2 (mm)	Lectura 3 (mm)	Lectura 1 (mm)	Lectura 2 (mm)	Lectura 3 (mm)		
25 %	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
50 %	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
75 %	4	4	4	5	5	4	6	6	5	43	4,77
100 %	6	4	6	10	10	12	14	16	16	93.99	10,44
Gentamicina	16	18	16	22	22	20	28	28	26	196	21,77
Agua Destilada 0 %	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

El extracto etanólico en concentraciones de 75% y 100% que presentó un efecto inhibitorio del 21.91 % y 47.96% respectivamente.

Fuente: Elaboración propia

Fórmula para la determinación del porcentaje de inhibición.

El porcentaje de Efecto Inhibitorio Relativo (PEIR) se calculó aplicando la siguiente fórmula teniendo como referencia la medición del diámetro de la zona de inhibición del control positivo y la medición del halo de los extractos ensayados.

Porcentaje de Efecto Inhibitorio Relativo (PEIR)

$$\text{PEIR} = \frac{\text{X } \emptyset \text{ Halo de inhibición del extracto}}{\text{X } \emptyset \text{ Halo de inhibición del control positivo}} \times 100$$

El halo de inhibición del desarrollo de *Staphylococcus aureus* promedio del extracto etanólico de *Mauria hetrophyllia* Kunth a 75% es 4,77 mm y de Gentamicina como fármaco de referencia es 21,77 mm.

$$\text{PEIR} = \frac{4,77}{21,77} \times 100 = 21,91\%$$

El halo de inhibición del desarrollo de *Staphylococcus aureus* promedio del extracto etanólico de *Mauria hetrophyllia* Kunth a 100% es 10,44 mm y de la Gentamicina como fármaco de referencia es 21,77 mm.

$$\text{PEIR} = \frac{10,44}{21,77} \times 100 \% = 47,96\%$$

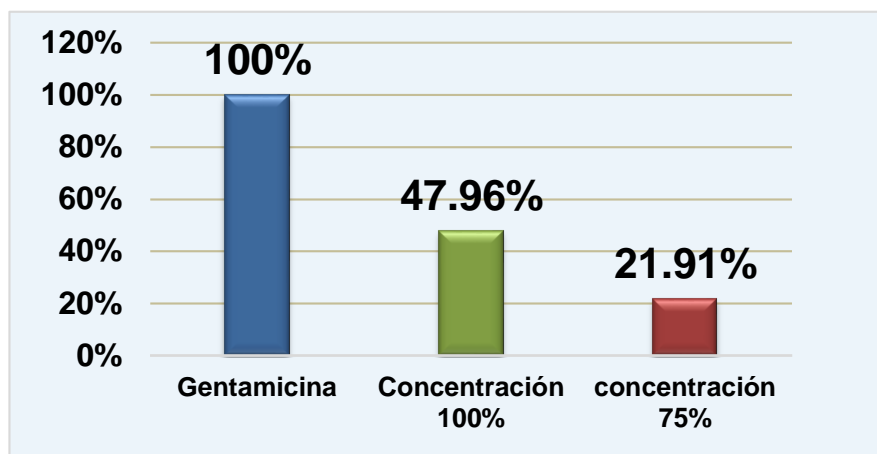


Figura 5. Porcentaje de efecto inhibitorio relativo de la Gentamicina vs. El extracto etanólico al 100% y 75 %. En las muestras procesadas por triplicado, los resultados de la Gentamicina que se usó como muestra control tuvo una suma promedio de 196 mm y un rango

De acuerdo a lo reportado en la tabla de Lectura de formación de halos de inhibición según el porcentaje de efectividad de la concentración del extracto etanólico *Mauria hetrophyllia* Kunth, los resultados obtenidos de la Lectura de formación de los halos de inhibición son:

El extracto a una concentración al 25 y 50% no presentan formación del halo de inhibición, por lo tanto, a dicha concentración no posee efecto antibacteriano.

El extracto a una concentración al 75% si presenta formación del halo de inhibición en las muestras por triplicado que se realizó, el mejor resultado se observó a las 72 h de incubado.

La suma promedio fue de 43 mm y el rango promedio de 4,77 mm.

Se reporta que el extracto a una concentración al 100% si presenta formación del halo de inhibición en las muestras por triplicado que se realizó, los resultados fueron más significantes en comparación a la concentración al 75%. La suma promedio fue de 93.99 mm y el rango promedio de 10,44 mm.

En las muestras procesadas por triplicado, los resultados de la Gentamicina que se usó como muestra control tuvo una suma promedio de 196 mm y un rango promedio de 21,77 mm teniendo un efecto inhibitorio al 100 %. En comparación del extracto etanólico en concentraciones de 75% y 100% que presentó un efecto inhibitorio del 21.91 % y 47.96% respectivamente.

Tabla 9

Porcentaje de inhibición del extracto etanólico *Mauria hetrophylla* Kunth según concentración. (Expresados en %)

Concentración del extracto vs control positivo	Promedio (mm)	Porcentaje de inhibición	Actividad antibacteriana
Extracto de 75 % vs Gentamicina	4,77	21,96%	Poco activo
Extracto de 100 % vs Gentamicina	13,77	47,96%	Moderadamente activo
Gentamicina	21,77	100%	Activo

Se obtuvo un efecto inhibitorio tomando como referencia a la Gentamicina que tendrá el 100% de efecto inhibitorio

Fuente Propia

Se aplicó la fórmula para la determinación del porcentaje de inhibición.

En el extracto a una concentración de 25 y 50% se reporta ausencia de formación del halo de inhibición, Mientras en el extracto a una concentración de 75% reporta 21,96 % de efecto inhibitorio tomando como referencia a la Gentamicina que tendrá el 100% de efecto inhibitorio.

En el extracto a una concentración de 100% reporta 47,96% de efecto inhibitorio tomando como referencia a la Gentamicina que tendrá el 100% de efecto inhibitorio.

Análisis estadístico de los resultados obtenidos en los ensayos in vitro.

Tabla 10

Análisis de la varianza (ANOVA) de los efectos entre los halos de inhibición por extracto etanólico de *Mauria hetrophyllia* Kunth sobre cultivos de *Staphylococcus aureus* a las 24h.

Unidireccional

Descriptivos						
Lectura_1_24h						
	N	Media	Desviación estándar	Error estándar	95% del intervalo de confianza para la media	
					Límite inferior	Límite superior
25%	3	,00	,000	,000	,00	,00
50%	3	,00	,000	,000	,00	,00
75%	3	4,00	,000	,000	4,00	4,00
100%	3	5,33	1,155	,667	2,46	8,20
Gentamicina	3	18,67	3,055	1,764	11,08	26,26
Agua destilada	3	,00	,000	,000	,00	,00
Total	21	5,62	6,801	1,484	2,52	8,71

ANOVA

Lectura_1_24h					
	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	900,952	6	150,159	87,593	,000
Dentro de grupos	24,000	14	1,714		
Total	924,952	20			

Fuente. Elaboración propia

Tabla 11.

Análisis de la varianza (ANOVA) de los efectos entre los halos de inhibición por extracto etanólico *Mauria hetrophylla* Kunth sobre cultivos de *Staphylococcus aureus* a las 48h.

Unidireccional

Descriptivos						
Lectura_1_48h						
	N	Media	Desviación estándar	Error estándar	95% del intervalo de confianza para la media	
					Límite inferior	Límite superior
25%	3	,00	,000	,000	,00	,00
50%	3	,00	,000	,000	,00	,00
75%	3	4,67	,577	,333	3,23	6,10
100%	3	10,67	1,155	,667	7,80	13,54
Gentamicina	3	21,33	1,155	,667	18,46	24,20
Agua destilada	3	,00	,000	,000	,00	,00
Total	21	7,14	7,882	1,720	3,55	10,73

ANOVA					
Lectura_1_48h					
	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	1233,905	6	205,651	332,20 5	,000
Dentro de grupos	8,667	14	,619		
Total	1242,571	20			

Fuente. Elaboración propia

Tabla 12

Análisis de la varianza (ANOVA) de los efectos entre los halos de inhibición por extracto etanólico *Mauria hetrophylla* Kunth sobre cultivos de *Staphylococcus aureus* a las 72h.

Unidireccional

Descriptivos						
Lectura_1_72h						
	N	Media	Desviación estándar	Error estándar	95% del intervalo de confianza para la media	
					Límite inferior	Límite superior
25%	3	,00	,000	,000	,00	,00
50%	3	,00	,000	,000	,00	,00
75%	3	5,67	,577	,333	4,23	7,10
100%	3	15,33	1,155	,667	12,46	18,20
Gentamicina	3	27,33	1,155	,667	24,46	30,20
Agua destilada	3	,00	,000	,000	,00	,00
Total	21	9,29	10,184	2,222	4,65	13,92

ANOVA

Lectura_1_72h

	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	2065,619	6	344,270	556,128	,000
Dentro de grupos	8,667	14	,619		
Total	2074,286	20			

Fuente. Elaboración propia

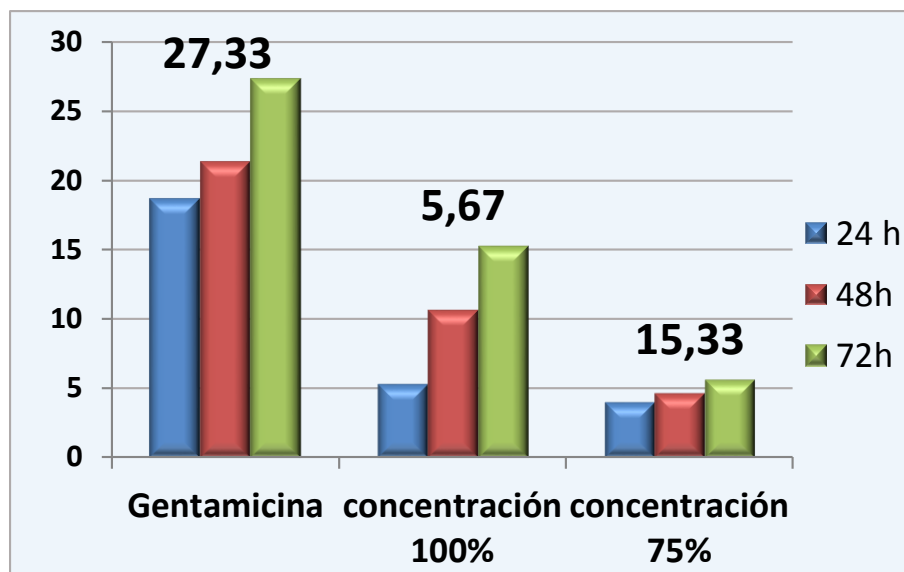


Figura 6. Lectura de formación de los halos de inhibición según el porcentaje de efectividad de la concentración del extracto etanólico *Mauria hetrophylla* Kunth al 75 % y 100% vs Gentamicina a las 24, 48, y 72h Fuente: Elaboración propia

Las tablas 9, 10 y 11 muestran el Análisis de Varianza de los efectos sobre los cultivos de *Staphylococcus aureus* con sus pruebas de comparaciones múltiples e intervalos de confianza al 95% según lo siguiente:

Para la bacteria *Staphylococcus aureus* se encontraron significancias estadísticas, en el modelo corregido ($p=0,000$), de igual forma para la intersección entre extracto etanólico, la bacteria y la concentración se determinó significancia estadística ($p=0,000$) lo mismo para los diferentes niveles de concentraciones ($p=0,000$).

La tabla de la lectura al tercer día muestra la media de las concentraciones a las 72 h, la concentración al 75% es de 5,67, al 100% es de 15,33. Mientras que los controles positivos, Gentamicina es de 27,33.

4.2. Prueba de hipótesis

Hipótesis general

El extracto etanólico de las hojas de *Mauria hetrophylla kunth* (Tres hojas) tiene efecto antibacteriano in vitro frente a *Staphylococcus aureus*

Ho: El extracto etanólico de las hojas de *Mauria hetrophylla kunth* (Tres hojas) no tiene efecto antibacteriano in vitro frente a *Staphylococcus aureus*.

Tabla 13
Prueba de hipótesis

Prueba de muestras independientes					
	Prueba de Levene de calidad de varianzas		prueba t para la igualdad de medias		
	F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)
Se asumen varianzas iguales	4,87	,05	-16,06	8	,00
No se asumen varianzas iguales			-16,06	5	,00

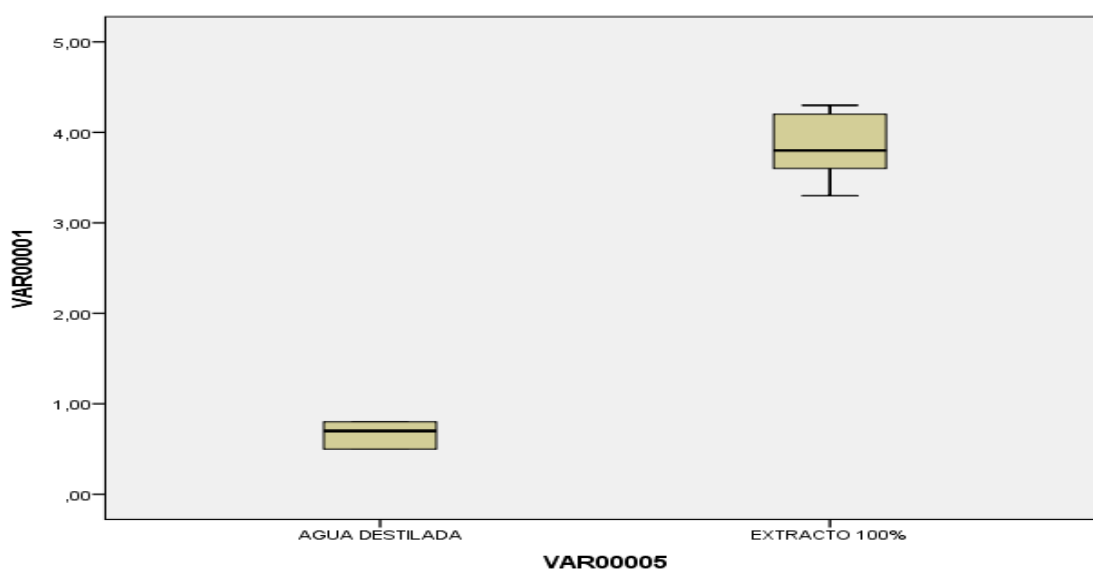


Figura 7. Existe diferencia entre el extracto 100% y el agua destilada. Fuente Propia

Del gráfico podemos observar que existe diferencia entre el extracto 100% y el agua destilada además de la tabla 12 se puede observar según la prueba de Levene el p valor (0.06) es mayor que 0.05 entonces se afirma que las varianzas de los grupos son iguales, y de la prueba t student el p valor (0.00) es menor que 0.05 entonces se rechaza la hipótesis nula y se concluye El extracto etanólico de las hojas de *Mauria hetrophyllia kunth* (Tres hojas) tiene efecto antibacteriano in vitro frente a *Staphylococcus aureus*

La concentración óptima del extracto etanólico de las hojas de *Mauria hetrophyllia kunth* (Tres hojas) que tiene mejor efecto antibacteriano in vitro frente a *Staphylococcus aureus* es entre 75 y 100%.

Hipótesis Especifica 1

Ho: La concentración óptima del extracto etanólico de las hojas de *Mauria hetrophyllia kunth* (Tres hojas) no tiene mejor efecto antibacteriano in vitro frente a *Staphylococcus aureus* es entre 75 y 100%.

Tabla 14.

Prueba de hipótesis especifica 1

Prueba de muestras independientes

	Prueba de Levene de prueba t para la igualdad de		calidad de varianzas medias		
	F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)
Se asumen varianzas iguales	,08	,78	-8,13	8	,000
No se asumen varianzas iguales			-8,13	6	,000

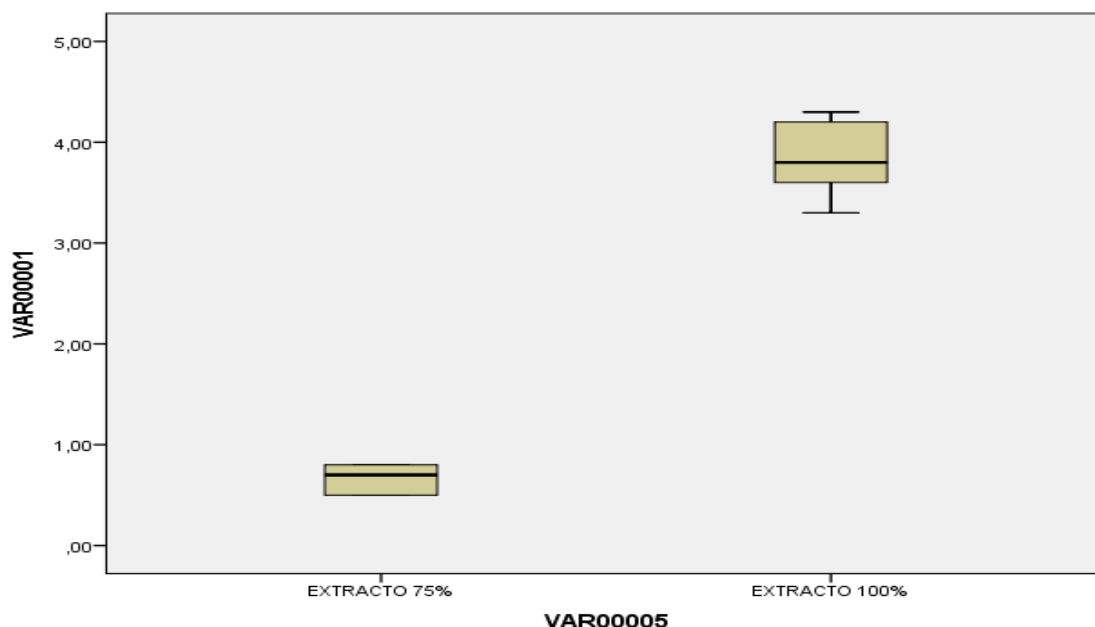


Figura 8. Se puede observar la diferencia entre el extracto 100% y el extracto al 75%. Fuente Propia

Del gráfico podemos observar que existe diferencia entre el extracto 100% y el extracto 75% además de la tabla 16 se puede observar según la prueba de Levene el p valor (0.78) es mayor que 0.05 entonces se afirma que las varianzas de los grupos son iguales, y de la prueba t student el p valor (0.00) es menor que 0.05 entonces se rechaza la hipótesis nula y se concluye. La concentración óptima del extracto etanólico de las hojas de *Mauria hetrophyllia kunth* (Tres hojas) que tiene mejor efecto antibacteriano in vitro frente a *Staphylococcus aureus* es entre 75 y 100%.

El extracto etanólico de las hojas de *Mauria hetrophyllia kunth* (Tres hojas) tiene efecto significativo respecto a la gentamicina en el efecto antibacteriano in vitro frente a *Staphylococcus aureus*.

Hipótesis Específica 2

Ho: El extracto etanólico de las hojas de *Mauria hetrophyllia kunth* (Tres hojas) no tiene efecto significativo respecto a la gentamicina en el efecto antibacteriano in vitro frente a *Staphylococcus aureus*

Tabla 15.
Prueba de hipótesis específica 2

Prueba de muestras independientes					
	Prueba de Levene de calidad de varianzas		prueba t para la igualdad de medias		
	F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)
Se asumen varianzas iguales	,00	1,00	-7,91	8	,000
No se asumen varianzas iguales			-7,91	7	,000

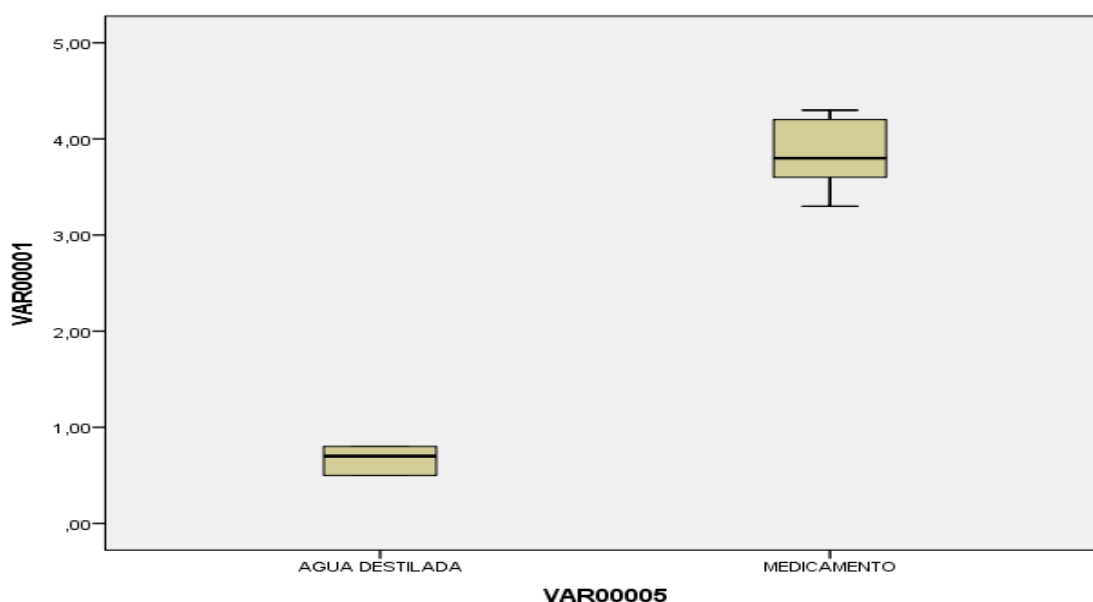


Figura 9. El extracto etanólico de las hojas de *Mauria hetrophyllia kunth* (Tres hojas) tiene efecto significativo respecto a la gentamicina en el efecto antibacteriano in vitro frente a *Staphylococcus aureus*. Fuente Propia.

Del gráfico podemos observar que existe diferencia entre el agua destilada y el medicamento además de la tabla 17 se puede observar según la prueba de Levene el p valor (1.00) es mayor que 0.05 entonces se afirma que las varianzas de los grupos son iguales, y de la prueba t student el p valor (0.00) es menor que 0.05 entonces se rechaza la hipótesis nula y se concluye El extracto etanólico de las hojas de *Mauria hetrophyllia kunth* (Tres hojas) tiene efecto significativo respecto a la gentamicina en el efecto antibacteriano in vitro frente a *Staphylococcus aureus*.

4.3 Discusión de resultados

En esta investigación sobre la planta *Mauria hetrophyllia kunth* in vitro, se determinó el efecto antibacteriano frente al *Staphylococcus aureus* 25;50;75 y 100% con la que se trabajó, a una concentración de 75% hubo presencia de influencia significativa en el efecto antibacteriano en los cultivos de *Staphylococcus aureus*, estudios in vitro. Se observó la formación del halo de inhibición a las 24h de incubado, los mejores resultados se vieron a las 72h de incubación, si posee efecto antibacteriano. Con halos de inhibición que oscilan entre 93.99mm y 10.44mm. Se demostró, que el extracto etanólico de las hojas de *Mauria hetrophyllia kunth* (tres hojas) tiene efecto antibacteriano frente al *Staphylococcus aureus* a la concentración de 75%, no presento efecto en las concentraciones del 25% y 50%.

El estudio concuerda con el de Páucar Jen el año 2017, que realizo estudios de eficacia bacteriana in vitro de alumbre napolitano el cual también tenía los mismos metabolitos que tenía *Mauria hetrophyllia kunth* y el cual demostró tener efecto antibacteriano a las mismas concentraciones del 75% frente al *Staphylococcus aureus* evidenciando los halos de inhibición

En la investigación del efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de las hojas de *Mauria hetrophyllia kunth* (tres hojas), se encontró que en las concentraciones 100,75,50y 25% la que tiene mayor efecto antibacteriano frente al *Staphylococcus aureus* es la de 75 %, mientras que las concentraciones de 25 y 50% según los resultados de Anova. En las muestras procesadas por triplicado, los resultados de la gentamicina que se usó como muestra control tuvo una suma promedio de 196 mm y un rango promedio de 21,77 mm teniendo un efecto inhibitorio al 100 %. En comparación del extracto etanólico en concentraciones de 75% y 100% que presentó un efecto inhibitorio del 21.91 % y 47.96% respectivamente.

La *Mauria hetrophyllia kunth* conocida (tres hojas), se emplearon para tratar enfermedades hepáticas, en forma de gargarismo se usaba también para el tratamiento de infecciones de las vías respiratorias (Rojas F, et al .2015). En forma de cataplasma se usa para curar heridas abiertas, las hojas y corteza se suele masticar para tratar el dolor de dientes, desinflamar las encías, curar las caries, como infusión se utilizaba para tratar heridas (Llanos J et al. 2018)

En el estudio de la marcha fitoquímica del extracto etanólico de las hojas *Mauria hetrophyllia kunth* (tres hojas). Se preparó una solución del extracto seco en agua destilada mg/ml con los diferentes reactivos que detectaron compuestos químicos de los cuales fueron:

alcaloides, compuestos fenólicos, lecoantocianinas y azúcares reductores, atribuyendo así el efecto antibacteriano a los terpenoides y los alcaloides que tiene la *Mauria hetrophylla* kunth

El estudio fue experimental, usamos gentamicina como control positivo y como control negativo solución salina 0.9%, las concentraciones que usamos fue 25,50,75y 100%. Se preparó caldo de triptona de soya para la activación inicial de la cepa y 15 placas con Agar Mueller Hinton como medio de *Staphylococcus aureus* mediante métodos de disco. Difusión de Kirby-Bauer, los cuales que demostraron mayor amplitud en los halos las concentraciones 100 y 75 % con mayor efecto antibacteriano.

Capítulo V

Conclusiones y recomendaciones

5.1. Conclusiones

- La investigación del efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de las hojas de *Mauria hetrophylla kunth* (tres hojas) frente al *Staphylococcus aureus* tiene efecto antibacterial frente al *Staphylococcus aureus*
- Entre las concentraciones 25;50;75;100%. los que mostraron halos inhibitorios fueron las siguientes concentraciones 75 y 100% mostrado en el estudio, demostrando así el efecto antibacteriano frente al *Staphylococcus aureus*
- Mientras que en la mínima concentración del 25 y 50% inhibitoria del extracto etanólico de las hojas de *Mauria hetrophylla kunth*, mostraron halos inhibitorios muy bajos y en otro escaso.
- A través de la prueba de sensibilidad antimicrobiana se demostró que el efecto antibacteriano del extracto etanólico de la *Mauria hetrophylla Kunth* frente al *staphylococcus aureus* fue significante menor con el control de la gentamicina.

5.2. Recomendaciones

- Realizar más estudios a la planta *Mauria hetrophylla kunth* (tres hojas) con fines descubrir que efectos más aparte del antibacteriano pueda demostrar, teniendo tantos metabolitos, compuestos químicos.
- Por su efecto antibacteriano de las hojas *Mauria hetrophylla kunth* sobre el *Staphylococcus aureus* se podrían realizar fórmulas magistrales con el principio activo de la planta y darle beneficios terapéuticos

Referencias bibliográficas

- Alfaro, M. & Ruíz M. (2018). Efecto antibacteriano in vitro del extracto acuoso de *Schinus molle* (molle) sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. *Rebiol.* 2018; 1(1): 4-16.
- Arteaga, L, López Y, & Chávez. M. (2018) Prevalencia de *Staphylococcus aureus* que coloniza el personal de salud de un hospital de la ciudad de Cali. *Revista Ciencias de la Salud.* 2018; 14 (1): 9-19. DOI: 10.12804/revsalud14.01.2016.01
- Arango, G. (2018) Alcaloides y compuestos nitrogenados. Universidad de Antioquia. 2008
- Castañeda, P. Hernández, D. Muñoz, M, & Soto L. (2018) Frequency of *S. aureus* infections in hospitalized patients in a third level private hospital in Mexico City. *Revista Médica MD.* 2018; 9(4): 317-321
- Cyted - CNPq. (2001) Métodos de la evaluación de la actividad farmacológica de plantas medicinales. Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo. 2001; 60 – 71
- De la Cruz. I. & González A. Riley (2012) C. Biosíntesis de alcaloides bencilisoquinolínicos. *Universitas Scientiarum.* 2012; 17(2): 189-202
- Llanos, J. (2018) Etnobotánica de la flora arbórea y arbustiva del departamento de Cajamarca. Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Cajamarca. 2018
- Casellas, J. (2011). Resistencia a los antibacterianos en América Latina: consecuencias para la infectología. *Revista Panamericana de Salud Pública.* 2011,30, 519–528.
- Castillo, H. Cochachin, E. & Albán, J. (2017). Plantas comercializadas por herbolarios en el mercado del distrito de Cajabamba (Cajamarca, Perú). *Boletín Latinoamericana y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas.* 2017; 16(3): 303-318
- Consejo General de Colegios Oficiales de Farmacéuticos. (2019) La Fitoterapia en manos de expertos. Infito. En línea. Fecha de acceso 04 octubre 2019. URL disponible en: <https://www.portalfarma.com/Profesionales/medicamentos/Documents/2018-Consenso-plantas-medicinales.pdf>
- Gimeno, E. (2019) Compuestos fenólicos. Un análisis de sus beneficios para la salud. *Offarm.* Elsevier. 2004; 23(6): 9-155. En línea. Fecha de acceso 06 octubre 2019. URL disponible en: <http://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-compuestos-fenolicos-un-analisis-sus-13063508>

- Ojeda, M. & Beltrán, R. (2018). Efecto antimicrobiano in vitro de los extractos de *Allium sativum* y *Zingiber officinales* frente a *Staphylococcus aureus*. UCV Scientia. 2018; 10(2): 152-158. DOI: 10.18050/RevUcv-Scientia.v10n2a4
- Organización Mundial de la Salud. Resistencia a los antibióticos en todo el mundo. (2019) En línea. Fecha de acceso 04 octubre 2019. URL disponible en: <https://www.who.int/mediacentre/news/releases/2018/antibiotic-resistance-found/en/>
- Organización Panamericana de la Salud. Situación de Plantas Medicinales en el Perú. (2019) 2019. En línea. Fecha de acceso 04 octubre 2019. URL disponible en: http://iris.paho.org/xmlui/bitstream/handle/123456789/50479/OPSPER19001_spa.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Lock de Ugaz, O. (2016) Investigación Fitoquímica. Tercera Edición. Lima: Editorial Fondo Pontificia Universidad Católica del Perú. 2016
- Mantilla, C. (2018). Determinación del efecto antibacteriano del aceite esencial del fruto *Citrus paradisi* (Tangelo) frente a *Staphylococcus aureus* in vitro. Facultad de Medicina Humana y Ciencias de la Salud. Carrera de Farmacia y Bioquímica. Universidad Alas Peruanas. 2018
- Mauricio, T. Mollinedo, P. Peñarrieta, J. & Bravo J. (2014) Compuestos fenólicos y su presencia en alimentos. Revista Boliviana de Química. 2014; 31(2): 68-81
- Montero, M. Mira, J. Avilés, D. Pazmiño, P. & Erazo, R. (2018) Eficacia antimicrobiana del aceite esencial de tomillo (*Thymus vulgaris*) sobre una cepa de *Staphylococcus aureus*. Rev. Investig. Vet. Perú. 2018; 29(2). DOI: <http://dx.doi.org/10.15381/rivep.v29i2.14520>
- Mostacero, J. (2005) Características edafoclimáticas y fitogeográficas de las plantas medicinales del dominio andino noroccidental del Perú, durante 1976 al 2004. Escuela de Post Grado, Doctorado del Medio Ambiente. Universidad Nacional de Trujillo. 2005
- Páucar, J. (2017) Eficacia antibacteriana in vitro del alumbre napolitano sobre *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*. Rev Peru Med Integrativa. 2017; 2(4): 823-830
- Ribotty, V. (2018) Efecto in vitro del extracto acuoso de *Allium sativum* (ajo) sobre cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a la meticilina. Tesis para optar el Título de Médico Cirujano. Universidad San Martín de Porres. 2018

- Rojas, F. & Torres, G. (2015) *Mauria heterophylla* Kunth. Cirrí rojo. Revista Forestal Mesoamericana Kurú. 2015; 12(28): 52-54
- Porras, A. & López, A. (2009) Importancia de los grupos fenólicos en los alimentos. Universidad de las Américas. México. 2009; 1(1): 121-134
- Salazar, M. (2018). Efecto cicatrizante y regenerativo de los geles tópicos elaborados a base del extracto seco de las hojas de *Mauria heterophylla* H.B.K. “tres hojas” en *Rattus* var. *albinus*. Facultad de Ciencias de la Salud. Carrera Profesional de Farmacia y Bioquímica. Universidad Privada Antonio Guillermo Urrelío. 2018
- Schleimer, N. Kaspar, U. Knaack, D. Eiff C, Molinaro, S. Graller, H. et al (2019) In Vitro Activity of the Bacteriophage Endolysin HY-133 against *Staphylococcus aureus* Small-Colony Variants and Their Corresponding Wild Types. Mol Sci. 2019; 20(1): 3-18. DOI: 10.3390/ijms20030716
- Sepúlveda, R. Haro I, & Castillo M. (2014) Efecto del extracto hidroalcohólico de *Punica granatum* sobre la viabilidad de *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa* «in vitro». Revista REBIOLEST, 2014,2(1), 23–31.
- Soto, Z. Pérez, L. & Estrada, D. (2016) Bacterias causantes de enfermedades transmitidas por alimentos: una mirada en Colombia. Salud Uninorte Barranquilla (Col.). 2016; 32(1): 105-122
- Vásquez, V. (2018). Evaluación del efecto antibacteriano del extracto metanólico de uña de gato sobre patógenos orales: *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) y *Fusobacterium nucleatum* (ATCC 25586). Facultad de Ciencias de la Salud. Carrera de Odontología. Universidad Peruana de Ciencias Aplicadas. 2018

Anexos

Anexo A: Matriz de consistencia

EFFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS HOJAS DE *Mauria hetrophyllia kunth* (Tres hojas) FRENTE A *Staphylococcus aureus*

PROBLEMAS	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	VARIABLES	DIMENSIONES	INDICADORES	METODOLOGÍA
<p>GENERAL 1. ¿El extracto etanólico de las hojas de <i>Mauria hetrophyllia kunth</i> (Tres hojas) tendrá efecto antibacteriano in vitro frente a <i>Staphylococcus aureus</i>?</p> <p>ESPECÍFICOS 1. ¿Qué tipos de metabolitos secundarios estarán presentes en el extracto etanólico de las hojas de <i>Mauria hetrophyllia kunth</i> (Tres hojas) como probables responsables del efecto antibacteriano in vitro frente a <i>Staphylococcus aureus</i>?</p> <p>2. ¿Cuál será la concentración óptima del extracto etanólico de las hojas de <i>Mauria hetrophyllia kunth</i> (Tres hojas) que tendrá mejor efecto antibacteriano in vitro frente a <i>Staphylococcus aureus</i>?</p> <p>3. ¿El extracto etanólico de las hojas de <i>Mauria hetrophyllia kunth</i> (Alonco) tendrá efecto significativo respecto a la gentamicina en el efecto antibacteriano in vitro frente a <i>Staphylococcus aureus</i>?</p>	<p>GENERAL 1. Determinar el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de las hojas de <i>Mauria hetrophyllia kunth</i> (Tres hojas) frente a <i>Staphylococcus aureus</i></p> <p>ESPECÍFICOS 1. Identificar los principales tipos de metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de las hojas de <i>Mauria hetrophyllia kunth</i> (Tres hojas) como probables responsables del efecto antibacteriano in vitro frente a <i>Staphylococcus aureus</i></p> <p>2. Identificar la concentración óptima del extracto etanólico de las hojas de <i>Mauria hetrophyllia kunth</i> (Tres hojas) que tiene mejor efecto antibacteriano in vitro frente a <i>Staphylococcus aureus</i></p> <p>3. Determinar si el extracto etanólico de las hojas de <i>Mauria hetrophyllia kunth</i> (Tres hojas) tiene efecto significativo respecto a la gentamicina en el efecto antibacteriano in vitro frente a <i>Staphylococcus aureus</i></p> <p>Enfoque: Cuantitativo Tipo: Experimental Tipo de estudio: Aplicado, explicativo</p>	<p>GENERAL 1. El extracto etanólico de las hojas de <i>Mauria hetrophyllia kunth</i> (Tres hojas) tiene efecto antibacteriano in vitro frente a <i>Staphylococcus aureus</i></p> <p>ESPECÍFICAS 1. Las clases de metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de las hojas de <i>Mauria hetrophyllia kunth</i> (Tres hojas) son los probables responsables del efecto antibacteriano in vitro frente a <i>Staphylococcus aureus</i></p> <p>2. La concentración óptima del extracto etanólico de las hojas de <i>Mauria hetrophyllia kunth</i> (Tres hojas) que tiene mejor efecto antibacteriano in vitro frente a <i>Staphylococcus aureus</i> es entre 75 y 100%</p> <p>3. El extracto etanólico de las hojas de <i>Mauria hetrophyllia kunth</i> (Tres hojas) tiene efecto significativo respecto a la gentamicina en el efecto antibacteriano in vitro frente a <i>Staphylococcus aureus</i>.</p> <p>Población: Planta de <i>Mauria hetrophyllia kunth</i> (Tres hojas) Cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 Muestras: Extracto etanólico de hojas de <i>Mauria hetrophyllia kunth</i> (Tres hojas) Número de colonias bacterianas de similar tamaño y morfología</p>	<p>VI Extracto etanólico de las hojas de <i>Mauria hetrophyllia kunth</i> (Tres hojas)</p> <p>VD Efecto antibacteriano in vitro frente a <i>Staphylococcus aureus</i>.</p>	<p>Metabolitos secundarios</p> <p>Prueba de solubilidad</p> <p>Formación de halos de crecimiento bacteriano</p> <p>Concentración del extracto</p>	<p>Compuestos fenólicos, flavonoides, leucoantocianidinas, alcaloides, taninos, esteroides y/o triterpenoides, aminoácidos, azúcares reductores</p> <p>Agua, etanol, metanol, acetona, cloroformo, acetato de etilo, n-butanol</p> <p>% de halos de inhibición</p> <p>25%, 50%, 75%, 100%</p>	<p>Grupo 1: Solución Salina normal 0.9% 100 uL</p> <p>Grupo 2: Gentamicina 10ug</p> <p>Grupo 3: Extracto 25% 100 uL</p> <p>Grupo 4: Extracto 50% 100 uL</p> <p>Grupo 5: Extracto 75% 100 uL</p> <p>Grupo 6: Extracto 100 % 100 uL</p>

Anexo B: Instrumento

Análisis fitoquímico

Reactivo	Metabólico secundario	Resultado
Bouchamdoit		
Gelatima 2%		
Rosenheim		
Fe cl3 5%		
Shimoda		
Bertrand		
Mayer		
Wagner		
Dragenforf		
Ninhidrima		
Fehling A, B		
Moliseh		
Blanca		

Lectura de porcentaje de efecto antibacteriana del extracto etanólico de *Mauria hetrophylla* Kunth, sobre *Staphylococcus aureus* a las 24, 48 y 72 horas

Concentración	Placa Petri	Tiempo (horas)		
		24h	48h	72h
25 %	1			
	2			
	3			
50 %	1			
	2			
	3			
75 %	1			
	2			
	3			
100 %	1			
	2			
	3			

Anexo C: Data de los datos obtenidos en el desarrollo experimental

Análisis fitoquímico

Reactivo	Metabólico secundario	Resultado
	Esteroides y	
Bouchamdoit	triterpemoideas	+
Gelatima 2%	taninos	++
Rosenheim	leucoantocianinas	+++
Fe cl3 5%	compuesto femoles	+++
Shimoda	flavonoides	+
Bertrand	alcaloides	++
Mayer	alcoloides	+
Wagner	alcaloides	+
Dragenforf	alcoloides	++
Ninhidrima	aminoacidos	-
Fehling A, B	azucares reductores	++
Moliseh	azucares reductores	+
Blanca	-	-

Leyenda:(-) Ausencia, (++) Presencia, (+++) Abundancia

Lectura de porcentaje de efecto antibacteriana del extracto etanólico de *Mauria hetrophyllia* Kunth, sobre *Staphylococcus aureus* a las 24, 48 y 72 horas.

Concentración	Placa Petri	Tiempo (horas)		
		24h	48h	72h
25 %	1	+++	+++	+++
	2	+++	+++	+++
	3	+++	+++	+++
50 %	1	++	+++	++
	2	+++	++	+++
	3	+++	+++	++
75 %	1	+	+	+/-
	2	+	+/-	+/-
	3	+/-	+	+
100 %	1	+/-	+/-	-
	2	+/-	-	-
	3	-	-	-

Fuente Propia

Fuente: Elaboración propia

Lectura de formación de halos de inhibición según el porcentaje de efectividad de la concentración del extracto etanólico *Mauria hetrophyllia* Kunth

Concentración del extracto	Lectura									Σ	Promedio (mm)
	24 horas			48 horas			72 horas				
	Lectura 1 (mm)	Lectura 2 (mm)	Lectura 3 (mm)	Lectura 1 (mm)	Lectura 2 (mm)	Lectura 3 (mm)	Lectura 1 (mm)	Lectura 2 (mm)	Lectura 3 (mm)		
25 %	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
50 %	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
75 %	4	4	4	5	5	4	6	6	5	43	4,77
100 %	6	4	6	10	10	12	14	16	16	93,99	10,44
Gentamicina	16	18	16	22	22	20	28	28	26	196	21,77
Agua Destilada 0 %	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Fuente: Elaboración propia

Porcentaje de inhibición del extracto etanólico *Mauria hetrophyllia* Kunth según concentración. (Expresados en %)

Concentración del extracto vs control positivo	Promedio (mm)	Porcentaje de inhibición	Actividad antibacteriana
Extracto de 75 % vs Gentamicina	4,77	21,96%	Poco activo
Extracto de 100 % vs Gentamicina	13,77	47,96%	Moderadamente activo
Gentamicina	21,77	100%	Activo

Fuente Propia

Análisis de la varianza (ANOVA) de los efectos entre los halos de inhibición por extracto etanólico de *Mauria hetrophylla* Kunth sobre cultivos de *Staphylococcus aureus* a las 24h

Unidireccional

	Descriptivos					
	Lectura_1_24h					
N	Media	Desviación estándar	Error estándar	95% del intervalo de confianza para la media		
				Límite inferior	Límite superior	
25%	3	,00	,000	,000	,00	,00
50%	3	,00	,000	,000	,00	,00
75%	3	4,00	,000	,000	4,00	4,00
100%	3	5,33	1,155	,667	2,46	8,20
Gentamicina	3	18,67	3,055	1,764	11,08	26,26
Agua destilada	3	,00	,000	,000	,00	,00
Total	21	5,62	6,801	1,484	2,52	8,71

ANOVA					
Lectura_1_24h					
	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	900,952	6	150,159	87,593	,000
Dentro de grupos	24,000	14	1,714		
Total	924,952	20			

Análisis de la varianza (ANOVA) de los efectos entre los halos de inhibición por extracto etanólico *Mauria hetrophylla* Kunth sobre cultivos de *Staphylococcus aureus* a las 48h

Unidireccional

	Descriptivos					
	Lectura_1_48h					
N	Media	Desviación estándar	Error estándar	95% del intervalo de confianza para la media		
				Límite inferior	Límite superior	
25%	3	,00	,000	,000	,00	,00
50%	3	,00	,000	,000	,00	,00
75%	3	4,67	,577	,333	3,23	6,10
100%	3	10,67	1,155	,667	7,80	13,54
Gentamicina	3	21,33	1,155	,667	18,46	24,20
Agua destilada	3	,00	,000	,000	,00	,00
Total	21	7,14	7,882	1,720	3,55	10,73

ANOVA					
Lectura_1_48h					
	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	1233,905	6	205,651	332,205	,000
Dentro de grupos	8,667	14	,619		
Total	1242,571	20			

Análisis de la varianza (ANOVA) de los efectos entre los halos de inhibición por extracto etanólico *Mauria hetrophylla* Kunth sobre cultivos de *Staphylococcus aureus* a las 72h
Unidireccional

Descriptivos						
Lectura_1_72h						
	N	Media	Desviación estándar	Error estándar	95% del intervalo de confianza para la media	
					Límite inferior	Límite superior
25%	3	,00	,000	,000	,00	,00
50%	3	,00	,000	,000	,00	,00
75%	3	5,67	,577	,333	4,23	7,10
100%	3	15,33	1,155	,667	12,46	18,20
Gentamicina	3	27,33	1,155	,667	24,46	30,20
Agua destilada	3	,00	,000	,000	,00	,00
Total	21	9,29	10,184	2,222	4,65	13,92

ANOVA					
Lectura_1_72h					
	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	2065,619	6	344,270	556,128	,000
Dentro de grupos	8,667	14	,619		
Total	2074,286	20			

Anexo E: Testimonio fotográfico



Figura 3 Sembrado de la bacteria *Staphylococcus aureus* fuente propia

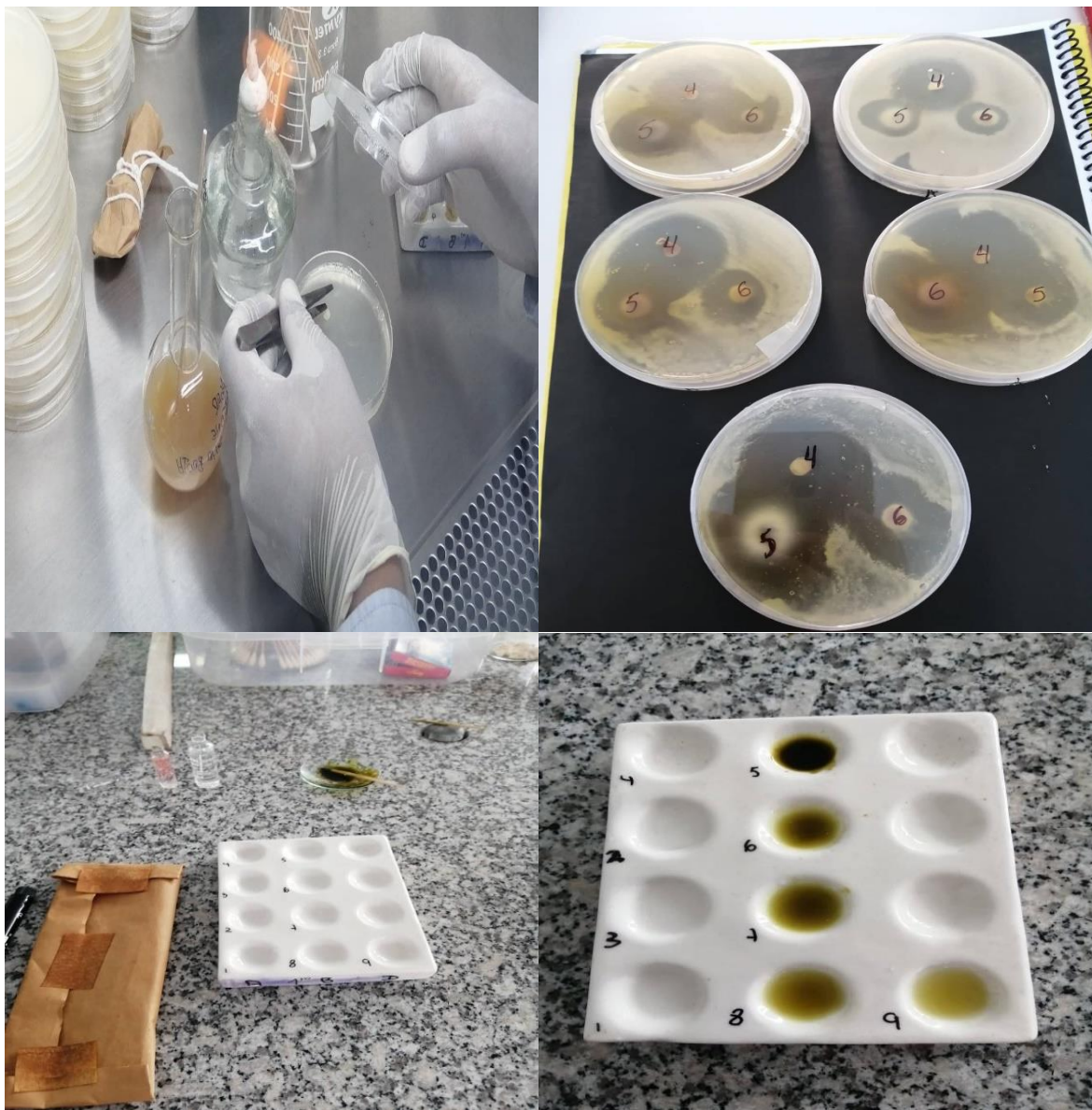


Figura 4 Implantación de los discos con las concentraciones y las placas formados sus halos. DE la *Mauria heterophylla* kunth frente al *staphylococcus aureus*. fuente propia

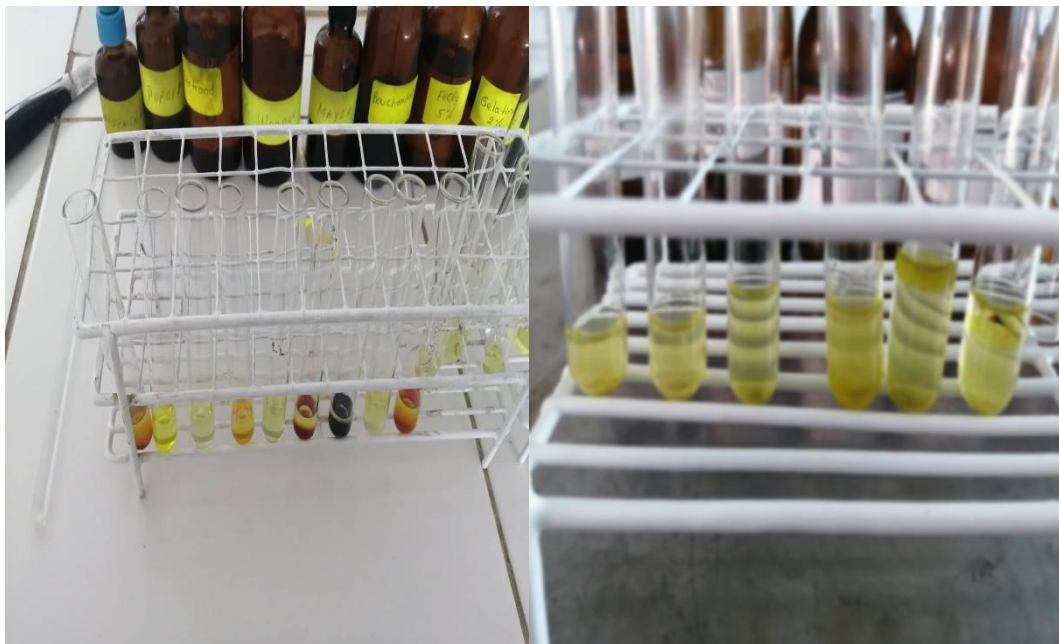


Figura 5 La marcha fitoquímica y de la prueba de la solubilidad del extracto etanólico de la *Mauria hetrophylla* kunth. Fuente Propia

Anexo F: Juicio de expertos

Ficha de validación del instrumento por juicio de expertos

I. Datos generales

1.1 Apellidos y nombres del experto:

1.2 Grado académico:

1.3 Cargo e institución donde labora:

1.4 Título de la Investigación:

1.5 Autor del instrumento:

1.6 Nombre del instrumento:

Indicadores	Criterios cualitativos/cuantitativos	Deficiente 0-20%	Regular 21-40%	Bueno 41-60%	Muy bueno 61-80%	Excelente 81-100%
1. Claridad	Está formulado con lenguaje apropiado.					
2. Objetividad	Está expresado en conductas observables.					
3. Actualidad	Adecuado al alcance de ciencia y tecnología.					
4. Organización	Existe una organización lógica.					
5. Suficiencia	Comprende los aspectos de cantidad y calidad.					
6. Intencionalidad	Adecuado para valorar aspectos del estudio.					
7. Consistencia	Basados en aspectos teóricos-científicos y del tema de estudio.					
8. Coherencia	Entre los índices, indicadores, dimensiones y variables.					
9. Metodología	La estrategia responde al propósito del estudio.					
10. Conveniencia	Genera nuevas pautas en la investigación y construcción de teorías.					
sub total						
total						

VALORACION CUANTITATIVA (Total x 0.20):

VALORACION CUALITATIVA:

OPINIÓN DE APLICABILIDAD:

Lugar y fecha:

.....
Firma y Posfirma del experto

DNI:

Anexo D: Juicio de expertos

Ficha de validación del instrumento por juicio de expertos

I. Datos generales

- 1.1 Apellidos y nombres del experto: CHURANGO VASQUEZ JAVIER FLORENTINO
 1.2 Grado académico: MAESTRO EN FARMACOLOGIA
 1.3 Cargo e institución donde labora: DOCENTE UNID
 1.4 Título de la Investigación: EFEECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL EXTRACTO ETANOLICO
 1.5 Autor del instrumento: ROSAS VILLANUEVA KAREN VANNESA
 1.6 Nombre del instrumento: FICHA DE VALIDACION

Indicadores	Criterios cualitativos/cuantitativos	Deficiente 0-20%	Regular 21-40%	Bueno 41-60%	Muy bueno 61-80%	Excelente 81-100%
1. Claridad	Está formulado con lenguaje apropiado.					100%
2. Objetividad	Está expresado en conductas observables.					100%
3. Actualidad	Adecuado al alcance de ciencia y tecnología.					100%
4. Organización	Existe una organización lógica.					100%
5. Suficiencia	Comprende los aspectos de cantidad y calidad.					100%
6. Intencionalidad	Adecuado para valorar aspectos del estudio.					100%
7. Consistencia	Basados en aspectos teóricos-científicos y del tema de estudio.					100%
8. Coherencia	Entre los índices, indicadores, dimensiones y variables.					100%
9. Metodología	La estrategia responde al propósito del estudio.					100%
10. Conveniencia	Genera nuevas pautas en la investigación y construcción de teorías.					100%
sub total						
total						

VALORACION CUANTITATIVA (Total x 0.20) : 20

VALORACION CUALITATIVA : EXCELENTE

OPINIÓN DE APLICABILIDAD: APLICABLE

Lugar y fecha: LIMA 13 03 2020

.....
 Firma y Posfirma del experto
 DNI: 07403292

Anexo D: Juicio de expertos

Ficha de validación del instrumento por juicio de expertos

I. Datos generales

- 1.1 Apellidos y nombres del experto: Tosayco Yatoco Nunguen José
- 1.2 Grado académico: DOCTOR
- 1.3 Cargo e institución donde labora: UNID
- 1.4 Título de la Investigación: Efecto antibiograma in vitro del extracto etanólico de la lija de *Morinda hecabea* Kunth (Drosera) frente a *S. typhlococcus aureus* ATCC
- 1.5 Autor del instrumento: Rojas Villanueva Karen Vannera 21923
- 1.6 Nombre del instrumento:

Indicadores	Criterios cualitativos/cuantitativos	Deficiente 0-20%	Regular 21-40%	Bueno 41-60%	Muy bueno - 61-80%	Excelente 81-100%
1. Claridad	Está formulado con lenguaje apropiado.				X	
2. Objetividad	Está expresado en conductas observables.				X	
3. Actualidad	Adecuado al alcance de ciencia y tecnología.				X	
4. Organización	Existe una organización lógica.				X	
5. Suficiencia	Comprende los aspectos de cantidad y calidad.				X	
6. Intencionalidad	Adecuado para valorar aspectos del estudio.				X	
7. Consistencia	Basados en aspectos teóricos-científicos y del tema de estudio.				X	
8. Coherencia	Entre los índices, indicadores, dimensiones y variables.				X	
9. Metodología	La estrategia responde al propósito del estudio.				X	
10. Conveniencia	Genera nuevas pautas en la investigación y construcción de teorías.				X	
sub total						
total						

VALORACION CUANTITATIVA (Total x 0.20) :

VALORACION CUALITATIVA : Muy Buena

OPINIÓN DE APLICABILIDAD: Aplicar

Lugar y fecha:

Firma y Posfirma del experto

DNI: 26.873.096