



UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES
CHIMBOTE

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

**EFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL
EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE HOJAS DE
Passiflora tripartita var. mollisima (TUMBO SERRANO)
SOBRE *Staphylococcus aureus***

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

AUTORA

MIRANDA BENITES, FIORELA KARELY EMPERATRIZ

ORCID: 0000-0001-6004-8805

ASESOR

LEAL VERA, CÉSAR ALFREDO

ORCID: 0000-0003-4125-3381

TRUJILLO – PERÚ

2020

EQUIPO DE TRABAJO

AUTORA

Miranda Benites, Fiorela karely Emperatriz

ORCID: 0000-0001-6004-8805

Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote. Estudiante de pregrado
Trujillo, Perú.

ASESOR

Leal Vera, César Alfredo

ORCID: 0000-0003-4125-3381

Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote. Facultad de Ciencias de la
Salud. Escuela profesional de Farmacia y Bioquímica. Trujillo, Perú.

JURADO

Díaz Ortega, Jorge Luis

ORCID: 0000-0002-6154-8913

Arteaga Revilla, Nilda María

ORCID: 0000-0002-7897-8151

Amaya Lau, Luisa Olivia

ORCID: 0000-0002-6374-8732

JURADO EVALUADOR DE TESIS

Dr. Jorge Luis, Díaz Ortega

Presidente

Mgtr. Nilda María, Arteaga Revilla

Miembro

Mgtr. Luisa Olivia, Amaya Lau

Miembro

Mgtr. César Alfredo Leal Vera

Asesor

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios por haberme permitido vivir hasta este día, haberme guiado a lo largo de mi vida, por ser apoyo, mi luz y mi camino. Por haberme dado la fortaleza para seguir adelante en aquellos momentos de debilidad.

Le doy gracias a mi madre, hermanas y esposo por todo el apoyo brindado a lo largo de mi vida. Por darme la oportunidad de estudiar esta carrera. Y por promover el desarrollo y la unión familiar en nuestra familia.

Profesores.

Gracias al Mgtr. César, Leal Vera, Mgtr. Luisa, Amaya Lau, Mgtr. Nilda, Arteaga Revilla les agradezco por todo el apoyo brindado a lo largo de la carrera, por su tiempo, amistad y ejemplo por los conocimientos que me transmitieron.

DEDICATORIA

Esta tesis se la brindo a mi Dios quién supo guiarme por el buen camino, darme fuerzas para seguir adelante y no desmayar en los problemas que se presentaban, enseñándome a encarar las adversidades sin perder nunca la dignidad ni desfallecer en el intento.

A mi familia quienes por ellos soy lo que soy.

Para mi madre por su apoyo, consejos, comprensión, amor, ayuda en los momentos difíciles, A mi esposo por su apoyo mutuo, por ayudarme con los recursos necesarios para estudiar. Me han dado todo lo que soy como persona, mis valores, mis principios, mi carácter, mi empeño, mi perseverancia, mi coraje para conseguir mis objetivos.

RESUMEN

La presente investigación es de tipo experimental, transversal de nivel explicativo y enfoque cuantitativo. Se realizó con el objetivo de evaluar el efecto antibacteriano in vitro del extracto hidroalcohólico de hojas de *Passiflora Tripartita* Var. *Mollissima* (tumbo serrano) sobre *Staphylococcus aureus*. Para ello se realizó cultivos de *Staphylococcus aureus* en las 30 placas petri que contenían agar Mueller Hinton, luego se incorporaron discos de sensibilidad: grupo control negativo, control positivo (Azitromicina 25mg/disco) y el extracto hidroalcohólico en concentraciones de 10% y 20%, el método que se usó fue de Kirby-Bauer, al cabo de 24 horas se midió los milímetros de los halos de inhibición de los resultados de las concentraciones fueron al 10% 15.95 ± 0.99 mm, al 20% 19.45 ± 1.06 mm, en el grupo blanco 6.0 ± 0.0 mm y grupo estándar (azitromicina) 29.57 ± 2.3 mm, los datos obtenidos fueron sometidos a la prueba ANOVA y T STUDENT. El análisis estadístico de los datos reveló que existe una muy alta diferencia significativa entre los grupos (ANOVA: $P < 0.05$). Según la comparación con la prueba T- Student existe muy alta diferencia significativa entre las comparaciones del control positivo frente los grupos experimentales y experimentales Vs experimentales. Por lo cual concluye que el extracto hidroalcohólico de hojas de *Passiflora tripartita* var. *mollissima* tiene efecto antibacteriano in vitro sobre *Staphylococcus aureus*.

Palabras clave: Extracto hidroalcohólico, efecto antibacteriano, *Staphylococcus aureus*.

ABSTRAC

The present investigation is of an experimental type, transversal of explanatory level and quantitative approach. It was carried out with the objective of evaluating the in vitro antibacterial effect of the hydroalcoholic extract of leaves of *Passiflora Tripartita* Var. *Mollissima* (tumbo serrano) on *Staphylococcus aureus*. For this, *Staphylococcus aureus* cultures were performed in the 30 petri dishes containing Mueller Hinton agar, then sensitivity discs were incorporated: negative control group, positive control (Azithromycin 25mg / disc and hydroalcoholic extract in concentrations of 10% and 20%, The method used was Kirby-Bauer, after 24 hours the millimeters of the inhibition halos were measured, the results of the concentrations were at 10% 15.95 ± 0.99 mm, at 20% 19.45 ± 1.06 mm, in the white group 6.0 ± 0.0 mm and standard group (azithromycin) 29.57 ± 2.3 mm, the data obtained were subjected to the ANOVA and T STUDENT test. $P < 0.05$). According to the comparison with the T-Student test, there is a very high significant difference between the comparisons of the positive control versus the experimental and experimental Vs experimental groups. Therefore, it concludes that the hydroalcoholic extract of leaves of *Passiflora tripartita* var. *mollissima* has an antibacterial effect in vitro on *Staphylococcus aureus*.

Key words: Hydroalcoholic extract, antibacterial effect, *Staphylococcus aureus*.

CONTENIDO

| | |
|---|------|
| 1. Título de la tesis..... | i |
| 2. Equipo de trabajo..... | ii |
| 3. Jurado evaluador de tesis..... | iii |
| 4. Agradecimiento..... | iv |
| 5. Dedicatoria..... | v |
| 6. Resumen..... | vi |
| 7. Abstract..... | vii |
| 8. Contenido..... | viii |
| 9. Índice de tablas..... | ix |
| | |
| I. INTRODUCCIÓN | 1 |
| II. REVISIÓN DE LITERATURA..... | 5 |
| 2.1. Antecedentes..... | 5 |
| 2.2. Bases teóricas..... | 8 |
| III. HIPÓTESIS..... | 16 |
| IV. METODOLOGÍA | 17 |
| 4.1 Diseño de la investigación | 17 |
| 4.2 Población y muestra..... | 19 |
| 4.3 Definición y operacionalización de las variables..... | 21 |
| 4.4 Técnicas e instrumentos | 22 |
| 4.5 Plan de análisis..... | 25 |
| 4.6 Matriz de consistencia..... | 26 |
| 4.7 Principios éticos..... | 27 |
| | |
| V. RESULTADOS..... | 28 |
| 5.1 Resultados..... | 28 |
| 5.2 Análisis de resultados..... | 30 |
| | |
| VI. CONCLUSIONES..... | 33 |
| ASPECTOS COMPLEMENTARIOS..... | 34 |
| REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 35 |
| ANEXOS..... | 42 |

INDICE DE TABLAS

| | |
|---|----|
| TABLA 1: Efecto antibacteriano in vitro del extracto hidroalcohólico de hojas de <i>Passiflora tripartita var. mollisima</i> (TUMBO SERRANO) sobre <i>Staphylococcus aureus</i> . Expresados en mm de diámetro de inhibición..... | 28 |
| TABLA 2: Comparación del efecto antibacteriano in vitro del extracto hidroalcohólico de hojas de <i>Passiflora tripartita var. mollisima</i> (TUMBO SERRANO) sobre <i>Staphylococcus aureus</i> | 29 |

I. INTRODUCCIÓN:

El medio natural ha sido origen de agentes medicinales desde el inicio de la humanidad hasta el inicio del siglo XX, donde las plantas medicinales cumplen el principal recurso terapéutico de la humanidad. En la búsqueda de la salud, el hombre ha progresado en el conocimiento de las especies vegetales que poseen propiedades beneficiosas, ampliando su experiencia en el empleo de sus productos. Hoy en día hay gran cantidad de fármacos que se siguen aislando de fuentes naturales⁽¹⁾.

Nuestro país constituye una parte fundamental de la cultura herbolaria popular, identificando una gran variedad de especímenes con actividad farmacológica, ya que gracias a las características y por la distribución geográfica, además de la gran biodiversidad de recursos naturales, han demostrado su efectividad en su uso tradicional; sin embargo muchas de estas plantas aunque sean muy usadas, aún no poseen el reconocimiento del rigor científico que avale su actividad desde la perspectiva biomédica, faltando información respecto a su actividad farmacológica y toxicológica⁽¹⁾.

En el Perú existe una gran variedad de plantas medicinales que están distribuidas, en gran cantidad, por las zonas andinas, las mismas que son encontradas por los temples andinos del Perú debido a sus suelos cálidos y su temperatura, ya que estos se encuentran constantemente en fotosíntesis, obteniendo como consecuencia de ello compuestos químicos que le brinda beneficios a la planta para poder desarrollarse en cualquier tipo de tierra⁽²⁾.

Unos de los problemas de la salud pública son las infecciones de las vías respiratorias agudas, las mismas que son causadas por *Staphylococcus aureus*, siendo la causa más común de las que enferman la población en diferentes áreas geográficas del mundo, lo que representa una importante carga para los sistemas de salud. La prevalencia de este organismo ha aumentado considerablemente en la población, ante ello, se está realizando la búsqueda de nuevas sustancias antibacterianas procedentes de fuentes naturales ⁽³⁾.

Estos han colaborado salvaguardando la salud y han contribuido con la medicina y las intervenciones quirúrgicas, aumentando las probabilidades de supervivencia frente a esta patología. No obstante, la resistencia bacteriana a los antibióticos se podría definir como la capacidad de un microbio para soportar los efectos y así poder inhibirlos sabiendo que la resistencia de los microorganismos se define como una condición microbiológica caracterizada por la capacidad natural o adquirida de la cepa bacteriana para resistir los efectos bactericidas o bacteriostáticos de un antibiótico. La resistencia bacteriana permite el desarrollo y utilización de nuevos antibacterianos, que son más costosos y a veces posiblemente más tóxicos que los usados habitualmente ⁽²⁾.

La presente investigación busca validar farmacológicamente el uso popular de las hojas de *Passiflora tripartita* var. *mollissima* (tumbo serrano) como agente antibacteriano, dado que en nuestro país se utiliza como alternativa para cubrir las necesidades terapéuticas y farmacológicas de los ciudadanos a través de

generaciones, por ejemplo, para aliviar y tratar diversas patologías producidas por microorganismos patógenos por las propiedades que poseen ⁽⁴⁾.

Passiflora tripartita var. *mollissima* denominada de manera vulgar como tumbo serrano es una planta trepadora mediante zarcillos, Tallos cilíndricos amarillo-verdoso de 7-9mm y 3-4mm de ancho, Hojas alternas triboladas, largamente pecioladas, Flores solitarias, axilares sobre pedúnculos de 6-7 cm de largo, rosadas, pentámeras, tubo del cáliz verde oliváceo, corola rosada, Fruto baya oblongo ovoide, de 6-9 cm de largo por 4-5 cm de diámetro, con cascara de amarillo claro, cubierta de una pubescencia fina, la pulpa contiene en su interior gran cantidad de semillas negras envueltas en bolsitos con un jugo de color amarillo oscuro a anaranjado. Hasta el momento no han sido estudiadas a profundidad ni divulgadas adecuadamente ⁽⁴⁾.

Su composición tiene elevado porcentaje en agua, es amplia en vitaminas y minerales como vitamina c, beta caroteno, niacina y polifenoles. Los minerales presentes en el fruto son; potasio, fosforo y magnesio. Estudios han demostrado que *Passiflora tripartita* posee propiedades antimicrobianas, antiinflamatorias, antivirales, efecto antialérgicos y protección en las enfermedades del sistema respiratorio, por ello es importante realzar mediante esta investigación la capacidad de metabolitos secundarios para actuar como agentes terapéuticos. Los flavonoides poseen una actividad amplia farmacológica que pueden unirse a enzimas transportadoras hormonales y el ADN, además de catalizar el transporte de electrones y depuración de radicales libres. Entonces podemos decir que posiblemente la actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico

de las hojas de *Passiflora tripartita* var. *mollissima* (tumbo serrano) está relacionado con la presencia de metabolitos secundarios como flavonoides, compuestos fenólicos y alcaloides dentro de su composición química ⁽⁴⁾.

Además, como se tiene conocimiento, las infecciones de las vías respiratorias agudas es uno de los problemas de la salud pública y son causadas por diversos agentes como virus, bacterias, hongos, dentro del grupo de agentes causales de bacterias, siendo la *Staphylococcus aureus* la principal causante de infecciones tanto para niños como adultos ⁽⁵⁾.

Después de las consideraciones anteriores se plantea el siguiente enunciado ¿Cuál será el efecto antibacteriano in vitro del extracto hidroalcohólico de hojas de *Passiflora tripartita* var. *mollissima* (tumbo serrano) sobre *Staphylococcus aureus*?

Por lo antes expuesto esta investigación se presenta como una alternativa para solucionar los múltiples problemas en el tratamiento de las afecciones provocadas por agentes patógenos bacterianos, y así poder contribuir al uso masivo del producto herbario como agente antibacteriano, tal como la *Passiflora tripartita* var. *mollissima* (tumbo serrano) y saber si el extracto hidroalcohólico es útil para enfrentar a los *Staphylococcus aureus* así reducir costo beneficio de los tratamientos y ser accesible a la comunidad.

OBJETIVOS GENERALES:

- Demostrar el efecto antibacteriano in vitro del extracto hidroalcohólico de hojas de *Passiflora tripartita var. mollissima* (tumbo serrano) sobre *Staphylococcus aureus*.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Determinar el efecto antibacteriano in vitro a concentraciones de 10%; 20% del extracto hidroalcohólico de hojas de *Passiflora tripartita var. mollissima* (Tumbo Serrano) sobre *Staphylococcus aureus*.
- Comparar el efecto antibacteriano in vitro a diferentes concentraciones del extracto hidroalcohólico de hojas de *Passiflora tripartita var. mollissima* (Tumbo Serrano) sobre *Staphylococcus aureus* frente al control estándar.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Antecedentes

Canchanya et al, en Perú, en el año 2020, realizaron el estudio sobre Actividad antibacteriana de un jarabe elaborado con extracto hidroalcohólico de las hojas de *Passiflora tripartita* (Tumbo) Frente a cepas *Staphylococcus aureus*; utilizando el extracto hidroalcohólico se preparó el jarabe a tres distintas concentraciones (20%,40 y 60%). Los resultados indican efecto antibacteriano, a una concentración de 60% con una media de 14.62 mm en la medida de los halos de inhibición frente a cepas de

Staphylococcus aureus ATCC con aproximación cercana al control positivo del fármaco Azitromicina (22.83 mm), superando la inhibición del antibiótico Clindamicina (8.87 mm). Asimismo, se determinó la existencia de metabolitos bioactivos cuya acción antibacteriana se relaciona con la presencia de flavonoides, alcaloides y compuestos fenólicos dentro de su composición química de la especie vegetal ⁽⁷⁾.

Dos Santos et al, en Brasil, en el año 2020 realizaron el estudio sobre el potencial antibiótico de los extractos de pulpa de *Psidium guajava* y *Passiflora edulis* contra *Staphylococcus aureus*, citotoxicidad e interferencia en la actividad de los fármacos antimicrobianos; las actividades antimicrobianas y antibiofilm de los extractos metanólicos obtenidos de *Passiflora edulis* contra aislados clínicos de *S. aureus* mostraron un CMI (Concentración mínima Inhibitoria) de 15,62 µg / mL. Las biopelículas cultivadas durante la noche de aislamientos clínicos de *S. aureus* fueron erradicadas con una concentración de 250 µg / mL, considerablemente más alta que los valores de CMI a los efectos protectores físicos y químicos de las sustancias poliméricas ⁽⁸⁾.

Nugraha et al. en Indonesia, en el año 2019 realizan la investigación sobre la actividad antibacteriana del extracto de etanol de cáscara de maracuyá púrpura (*Passiflora edulis* Sims) en *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*; se probó la actividad antibacteriana mediante el método de difusión en agar con discos de papel, mostrando que el extracto de etanol tiene una

inhibición efectiva a la concentración de 300 mg/ml contra *Staphylococcus aureus*, se observó que esta actividad fue dependiente de la dosis ⁽⁹⁾.

En la investigación de Siebra et al., en Brasil, en el año 2018, sobre la potenciación de la actividad antibiótica por *Passiflora cincinnata* Mast. frente de las cepas *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, primero prepararon extractos etanólicos al 50%, luego al estudiar la actividad antibacteriana frente a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* encontraron que la concentración inhibitoria mínima (CMI) fue igual o superior a 1024 µg/mL, esto indicaría que los extractos no mostraron actividad antimicrobiana de relevancia clínica, sin embargo, demostraron tener actividad modificadora de antibióticos (amikacina, gentamicina, ampicilina, bencilpenicilina potásica y oxacilina) donde *S. aureus* mostró 13 actividades sinérgicas al ser utilizadas con los fármacos antes mencionados; lo que haría de los extractos hidroalcohólicos agentes antimicrobianos potenciales cuando se combinan con fármacos convencionales poco utilizados en el tratamiento in vitro ⁽¹⁰⁾.

Mohite et al., En la India, en el año 2018, presentaron sus estudios sobre la actividad antimicrobiana de extractos de hojas de *Passiflora foetida*, El extracto acuoso de hojas de *Passiflora foetida* se probó contra *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus spp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, que se sabe que son resistentes a varios antibióticos; se prepararon extractos acuosos a partir de hojas frescas de *Passiflora foetida*. La susceptibilidad de

las bacterias se determinó midiendo el diámetro de las zonas de inhibición formadas alrededor del pozo en la placa. Los resultados mostraron que las hojas de *Passiflora foetida* poseen actividad antimicrobiana ⁽¹¹⁾.

Aernan et al, en Nigera, en el año 2016, analizan los extractos orgánicos de *Passiflora edulis* y su actividad antibacteriana contra bacterias Gram positivas y Gram negativas clínicamente importantes, a saber: *Staphylococcus aureus*, *Bacillus spp*, *Streptococcus spp*, *Escherichia coli*, *Salmonella spp* y *Shigella spp*. La actividad antibacteriana in vitro se realizó mediante el método de difusión en disco. El extracto de acetato de etilo de las hojas inhibió excelentemente el crecimiento de *S. aureus*, *Bacillus spp*, *Salmonella spp* y *Shigella spp*. El extracto etanólico del tallo también mostró actividad antibacteriana contra *S. aureus*, *E. coli* y *Shigella spp*, ⁽¹²⁾.

2.2 Bases teóricas

Fitoterapia

La medicina alternativa a base de plantas verdes es una noción mundial sobre esta elección de tratamiento que ha ido aumentando, impulsando la búsqueda de información científica sobre los metabolitos secundarios de las plantas para determinar que su uso es eficaz y seguro. La vegetación, al igual que los preparados, pueden provocar reacciones adversas, interacciones e intoxicaciones por sobredosis, sin embargo, una hierba contiene muchos componentes activos a diferencia de la única sustancia química en una droga o medicamento y puede

tener varias acciones de apoyo a la salud del cuerpo. Fitoterapia se basa en el sistema más antiguo y más universal de la medicina ⁽¹⁵⁾.

Plantas medicinales

Las hierbas medicinales son efectos que contienen únicamente ingredientes activos, una o más plantas (completas o fracciones de plantas en estado seco), o una o más elaboraciones a base de plantas (preparaciones obtenidas por métodos como extracción, destilación, purificación, fermentación, etc, consiguiendo extractos, tinturas o aceites esenciales), mediante la mezcla de una o más hierbas en combinación con una o más preparaciones a base de plantas ⁽¹⁵⁾.

Droga vegetal

Se designa así a las plantas o sus partes enteras, molidas o pulverizadas (flores, frutos, semillas, tubérculos, corteza, etc) frescas o secas, así como los jugos, gomas, látex, aceites esenciales o fijos y otros componentes similares, que se emplean puras o mezcladas en la elaboración de medicamentos ⁽¹⁶⁾.

Principio activo

Son los fármacos y son aquellos componentes de las drogas medicinales que tienen acción farmacológica y son extraídos a partir de una droga vegetal, con la finalidad de provocar una acción en el organismo, estos pueden ser de diferentes tipos y se los puede clasificar en dos grandes grupos: metabolitos primarios y secundarios ⁽¹⁶⁾.

Extracto hidroalcohólico

Son extractos líquidos concentrados, obtenidos de la extracción de una planta o parte de ella, utilizando como etanol u otro solvente adecuado. Tienen por característica sedimento, color y aroma característico de la planta de la cual se obtiene. ⁽¹⁶⁾.

PASSIFLORA TRIPARTITA VAR. MOLLISIMA

Pasiflora tripartita var mollisima (tumbo serrano) florece esta oriunda hierba en lugares fríos, está distribuida especialmente en zonas heladas de nuestro Perú. Siendo popular con el seudónimo de tumbo serrano, curuba de castilla, poro poro ⁽⁴⁾.

En nuestro país se encuentra en las alturas, aproximadamente a nivel del mar, preferencialmente en la región sierra de Moquegua, Junín; zonas que contienen altos niveles de humedad y épocas con características secas, esto se da específicamente en quebradas interandinas, con climas que oscilan entre altos grados centígrados, se cultivan generalmente en aguaceros, creciendo también en estado semi-silvestre, creando defensas contra el frío clima ⁽⁴⁾.

Enredaderas fuertes, tallo cilíndrico pubescente, llegando a medir entre 7 a 12 metros además puede presentar hojas de tipo obovada, trilobulada y con bordes aserrados en sus márgenes, comúnmente con vellosidades pubescentes en las dos caras. Presenta flores con pétalos que van de color rosado hasta color escarlata; muestra brácteas tubulares verduscos con terceto lóbulos extensos alcanzando a medir de 6 a 10 cm, fruto ovoide, al florecer amarillo conforme a su variedad;

volúmenes inestables de 6 a 29 cm de largo. pesando 90 g. fruto rico especialmente en niacina (3,05mg en 100g) con sabor agridulce ⁽⁴⁾.

Descripción botánica

Es una planta hiedra, que crece muy bien en altitudes incluso cercanas a los 4000 m.s.n.m., produce frutos de forma elipsoidal y se propaga por semillas; planta domesticada desde la época prehispánica en la zona andina, perteneciendo a la familia Passifloraceae, además se caracteriza por la densidad de plantación que alcanza entre sus ramadas, se pueden poner en 2.0 m entre plantas y 4.0 m entre hileras ⁽⁴⁾.

Composición química

Passiflora tripartita a través del género de Passiflora se reconoce que posee metabolitos como alcaloides, fenoles, flavonoides glicosilados y cianogénicos, muy pocas se caracterizan por tener un gran porcentaje de sustancias polifenólicas; excepto Passiflora mollissima (Kunth) L.H Bailey (Purpuro) fruto con gran capacidad antioxidante ⁽¹⁵⁾.

Propiedades terapéuticas

El contenido de fenoles totales y el contenido de flavonoides presentes en el género pasiflora, conceden a estas propiedades antioxidantes y propiedades antibacterianas ⁽¹⁵⁾.

Toxicidad

No se ha reportado toxicidad

STAPHYLOCOCCUS AUREUS

Es una bacteria Gram positiva esférica (cocos) de 1 a 1,3 micras de diámetro, se manifiesta en forma de racimos o cadenas cortas, inmóvil, no formar esporas, anaerobios facultativos; sus reservorios se hallan en los humanos y los animales. Los daños que ocasiona la bacteria en su hospedador provienen de su propia característica estructural que le proporciona la elaboración de una isoenzima y toxina específica y le da la capacidad de reproducirse en las diversas partes del cuerpo provocando así daño celular localizado en el sitio de infección ⁽¹⁶⁾.

La obtención puede ser endógena o exógena, la infección exógena se lleva a cabo a través de la contaminación de tejido traumatizado, contaminación de tejido de material contaminado y la ingesta de alimentos o leche contaminada. La infección endógena se da por la entrada de la bacteria desde la piel a través de heridas, fracturas o cuerpos extraños ⁽¹⁶⁾.

Genoma del staphylococcus aureus

La dimensión del gen de *S. aureus* modifica en función de la cepa secuenciada, fluctúa alrededor de 2.4742 – 3,043 Mb. Siendo la confrontación de las gens demostrando el 50 % de proteínas codificadas por el cromosoma de *S. aureus* teniendo una homología con la bacteria *Bacillus subillis* que nos refiere los microorganismos derivan de un ancestro común. El gen que forma la medula de la bacteria alcanza un 75 % del genoma y en la mayoría se relaciona con el metabolismo central ⁽¹⁶⁾.

El gen que forma el núcleo, alcanza alrededor del 10 % del genoma del bacilo, estando almacenadas entre cepas que están unidas evolutivamente y recopilan esencialmente albuminas ⁽¹⁶⁾.

Son los que denominan la causa de virulencia y tenacidad a varios antimicrobianos. Los análisis de las síntesis permiten manifestar los mecanismos de conjugación, transformación, y traducción del elemento genético mediante plásmidos móviles ⁽¹⁷⁾.

Etiopatogenia

Desde 20 y 50 % de la comunidad es portadora de *Staphylococcus aureus* en fosas nasales y 30 % definitivo en piel y tracto gastrointestinal; cuando las barreras de defensa no están intactas, el bacilo logra llegar a tejidos profundos y originar problemas de salud. Estos pacientes podrían contagiarse con la misma cepa que invaden sus fosas nasales, la colonización igualmente permite la transmisión entre sujetos del hospital como en la comunidad ⁽¹⁷⁾.

Mecanismo de virulencia

Staphylococcus aureus elabora gran cantidad de enzimas extracelulares, varias de las cuales participan probablemente en la patogenicidad del microorganismo. Entre dichas enzimas se halla la coagulasa que produce la coagulación del plasma y puede encontrarse libre o unida a la bacteria, actúa sobre el factor liberador de coagulasa (CRF), lo que produce la formación de trombina coagulasa, misma que convierte el fibrinógeno en fibrina. La coagulasa ligada a la bacteria beneficia la formación de grumos o racimos, lo que ayudaría a la fagocitosis. ⁽¹⁷⁾.

La albumina Cna su función es medir la adherencia bacteriana al colágeno, consta en la codificación mediante el gen cna, encontrado en una isla de patogenicidad, también indican investigaciones manifestando que la proteína Cna es proporcionada e importante para la adherencia del bacilo al cartílago, aunque desempeñan un papel importante en las infecciones de hueso y en articulaciones no se identifican ⁽¹⁷⁾.

La albumina A posee una amplia unión a la fracción Fe de la inmunoglobulina G. Sin embargo, *S aureus* también posee la capacidad de adherirse a superficies de biomateriales y subsecuentemente formar un biofilm ⁽¹⁷⁾.

Formación de biofilm, consigue ser determinado como una sociedad sétil procedente de bacteria desarrollado por células que viven adheridas a un sustrato, interface o unidas unas con otras, impregnadas en una sustancia polimerica de matriz extracelular y que exhibe fenotipos alterados respecto al crecimiento, expresión de genes y producción de proteínas ⁽¹⁸⁾.

La hialuronidasa, se encarga de reducir el ácido hialurónico facilitando la propagación de la infección y las penicilinas, siendo una enzima derivada por el *S. aureus* puede inactivar a la penicilina hidrolizando el anillo B-lactámico ⁽¹⁸⁾.

La oxitocina alfa esta codificada por el gen hla y estando reciente el genoma en alto porcentaje. Este toxico tiene el contenido de construir poros en la célula, induciendo la lisis de la misma. La hemolisina beta posee actividad esfingomielinasa, mientras que, la hemolisina gamma alcanza a lisar los eritrocitos de los mamíferos, presenta acción de neutrófilos, macrófagos, siendo

como ultimo la hemolisina delta de la toxina codificadora del gen hld, dándose en el cromosoma con un 97 % en cepas de *Staphylococcus aureus* y posee la capacidad de lisar eritrocitos y tiene propiedades surfactante y formadora de poros ⁽¹⁸⁾.

Inmunidad contra staphylococcus aureus

El método de complemento logra activarse por tres vías como la clásica, la alterna y la de lecina, *Staphylococcus aureus* puede ocasionar las tres vías, por lo tanto, el sistema de complemento es ineficiente contra los microorganismos, siendo necesario la activación de los neutrófilos, los cuales logran mostrarse de acuerdo los ácidos tipo teicoicos y el peptidoglicano de las bacterias Gram positivas a través de los receptores tipo Toll-2, además se observó que esta bacteria procede transformaciones en neutrófilos mediante la adhesión, afectando la expresión de las albuminas, permitiendo e induciendo una reducción oxidativa permitiendo su supervivencia intracelular ⁽¹⁹⁾.

En el proceso de los contagios, los neutrófilos actúan alistando a los leucocitos en el lugar de la infección, así, el sistema de complemento tiene un rol central en el sistema inmune innato, implicando la quimiotaxis, opsonización y destrucción de la membrana celular de los patógenos ⁽¹⁹⁾.

Infección bacteriana staphylococcus aureus

El termino infección es la presencia y proliferación de gérmenes en el cuerpo ⁽²⁸⁾. Los contagios causados por *Staphylococcus aureus* se da mediante contusiones epidérmicas que benefician la perspicacia del microorganismo comenzando desde piel hacia los tejidos profundos, produciendo supuraciones y absceso. Por

su amplia variabilidad, puede producir padecimientos de amplio espectro como infecciones menores del tegumento e infecciones invasoras serias ⁽¹⁶⁾.

Etapas de la infección por *Staphylococcus aureus*

El periodo de incubación para las *S. aureus* en personas es variable. La intoxicación estafilocócica alimentaria por lo general su periodo de incubación puede variar desde 30 minutos hasta ocho horas ⁽¹⁶⁾. Periodo de estado, muchos casos clínicos se hacen evidentes en 4 a 10 días, la colonización asintomática es común y logra producir la enfermedad hasta varios meses posteriormente de la colonización ⁽¹⁶⁾.

III. HIPÓTESIS

H0 : El extracto hidroalcohólico de hojas de *Passiflora tripartita var.*

Mollissima

(Tumbo Serrano) no posee efecto antibacteriano in vitro sobre *Staphylococcus aureus*.

H1 : El extracto hidroalcohólico de hojas de *Passiflora tripartita var.*

Mollissima

(Tumbo Serrano) posee efecto antibacteriano in vitro sobre *Staphylococcus aureus*.

IV. METODOLOGIA

Tipo y nivel de la investigación

La presente investigación es de tipo experimental, de nivel cuantitativo – transversal.

4.1 Diseño de la investigación

En este informe de investigación tiene como diseño experimental “in vitro” de nivel cuantitativo y transversal, donde se desarrolló en los laboratorios de la Escuela de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote- filial Trujillo. Están conformados por cuatro grupos que consistió en:

Grupo Control negativo

Dicho grupo estuvo formado por 5 placas petri contenía Agar Müeller Hinton (25 ml) y sembradas con la bacteria *S. aureus* ATCC 25923 (1×10^8 UFC por ml) el cual se realizó como patrón el tubo 0.5 de la turbidez de Mc Farland, en estas placas se colocaron 4 discos de papel filtro (Whatman N°41) con un diámetro de 6 mm, sobre estos discos se colocó un solvente (100 μ l de solución suero fisiológico).

Grupo estándar farmacológico

Dicho grupo estuvo formado por 5 placas petri contenía con Agar Müeller Hinton (25 ml) y sembradas con la bacteria *S. aureus* ATCC 25923 con una concentración de (1×10^8 UFC por ml) utilizando como patrón el tubo 0.5 de la turbidez de Mc Farland, en ello se colocó 4 discos hechos con papel filtro

(Whatman N° 41) con un diámetro de 6 mm, sobre estos discos se colocará una solución de Azitromicina (25mg/disco).

Grupo experimental N°1 (10%) (p/v) del extracto hidroalcohólico de hojas de Tumbo Serrano.

Dicho grupo estuvo formado por 5 placas petri contenía Agar Müeller Hinton (25 ml) y sembradas con bacteria *S. aureus* ATCC 25923 con una concentración (1×10^8 UFC por ml) utilizando como patrón el tubo 0.5 de la turbidez de Mc Farland, en ellas se colocaron 4 discos hechos de papel filtro (Whatman N° 41 con un diámetro de 6 mm), sobre estos discos se colocó el extracto hidroalcohólico de hojas de *Passiflora tripartita var. Mollissima*, diluido al 10%.

Grupo experimental N°2 (20%) (p/v) del extracto hidroalcohólico de hojas del Tumbo Serrano.

Dicho grupo estuvo formado por 5 placas petri contenía Agar Müeller Hinton (25 ml) y sembradas con bacteria *S. aureus* ATCC 25923 (1×10^8 UFC por ml) utilizando como patrón el tubo 0.5 de la turbidez de Mc Farland, en ellas se colocaron 4 discos hechos con papel filtro (Whatman N° 41 con un diámetro de 6 mm) sobre estos discos se colocó el extracto hidroalcohólico de hojas de *Passiflora tripartita var. mollissima* diluido al 20%.

4.2 Población y muestra

Población:

Formadas por las plantas de *Passiflora tripartita* var. *mollissima* (Tumbo Serrano), recolectada en las plantaciones del distrito de Cachicadán, Provincia de Santiago de Chuco, Departamento de La Libertad situada a una altitud 2892 msnm. Las plantas no deben estar dañadas ni maltratadas y serán empaquetadas en papel Kraff para su traslado a la ciudad de Trujillo.

Muestra:

Estuvo formado por las hojas provenientes de la planta *Passiflora tripartita* var. *mollissima* (Tumbo Serrano), recolectadas en el distrito de Cachicadán, Provincia de Santiago de Chuco, Departamento de La Libertad, que cumplan con los criterios de inclusión/exclusión planteados en el presente trabajo.

Criterios de inclusión: Se seleccionaron hojas frescas en buen estado de *Passiflora tripartita* var. *Mollissima* (Tumbo Serrano) y con buenas características organolépticas (Anexo 02).

Criterios de exclusión: Se rechazaron aquellas hojas demasiado jóvenes (pequeñas) o envejecidas, y también aquellas que hubieran estado expuestas a pesticidas u otros factores que podrían afectar la composición química de la misma y así puedan afectar su poder antibacteriano.

Material Biológico:

La muestra se obtuvo del servicio de laboratorio del Hospital Jerusalén – La Esperanza.

Criterios de inclusión: Cultivos rejuvenecidos, Cultivos no contaminados.

Criterios de exclusión: Se excluyeron *Staphylococcus* de otras especies, cultivos con presencia de contaminantes.

4.3 Definición y operacionalización de las variables

| VARIABLES | DEFINICIÓN CONCEPTUAL | DEFINICIÓN OPERACIONAL | INDICADOR | ESCALA DE DIMENSIÓN |
|--|---|---|---|------------------------------|
| <p>INDEPENDIENTE</p> <p>Concentración del extracto hidroalcohólico de hojas de <i>Passiflora tripartita</i> var. <i>mollisima</i> (<i>tumbo serrano</i>).</p> | <p>Son soluciones de metabolitos obtenidos de hojas de <i>Passiflora tripartita</i> var <i>mollisima</i> en etanol al 70° y luego diluidas cada uno de ellos en etanol, en las concentraciones.</p> | <p>Se usaron 2 concentraciones del extracto hidroalcohólico de <i>Passiflora tripartita</i> var. <i>mollisima</i> al (10 y 20%), obtenidos en el laboratorio.</p> | <p>Grupo control negativo se colocó un solvente (100 µl de solución suero fisiológico), grupo control positivo (Azitromicina).</p> <p>Concentraciones grupo experimental del extracto hidroalcohólico de <i>Passiflora tripartita</i> var. <i>mollisima</i> (<i>tumbo serrano</i>) 10%; 20%. Volumen:100 µl</p> | <p>Cualitativa nominal</p> |
| <p>DEPENDIENTE</p> <p>Efecto Antibacteriano de <i>Staphylococcus aureus</i>.</p> | <p>Susceptibilidad del <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 bajo la acción de las diferentes diluciones del extracto Hidroalcohólico <i>Passiflora Tripartita</i> Var <i>Mollisima</i>.</p> | <p>Efecto evidenciado mediante la medición de halos de inhibición.</p> | <p>Para determinar el efecto antibacteriano se midió los halos de inhibición de crecimiento de todos los grupos. Se expresarán en mm (milímetros).</p> | <p>Cuantitativa de razón</p> |

4.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos:

Material vegetal y obtención del extracto:

Las hojas de *Passiflora mollisima* fueron recolectadas de las plantaciones del distrito de Cachicadán, Provincia de Santiago de Chuco, Departamento de La Libertad; posteriormente fueron seleccionadas, lavadas y desengrasadas con etanol diluido; se recolectaron dos especímenes completos para la identificación botánica en el Herbarium Truxillensis (HUT) ⁽²¹⁾.

Preparación del extracto:

Las hojas fueron pesadas (1785 gramos de muestra vegetal fresca) y posteriormente colocadas sobre papel Kraft y secadas a temperatura (40°C) y pulverizadas en un molino de mano hasta obtener partículas finas. Al polvo seco obtenido (273.11 gramos) se adicionó agua destilada y alcohol al 70% en una relación 1:3 (819.33ml de etanol al 70%), la mezcla se colocó en un frasco para maceración por 5 días con agitación constante y protegido de la luz solar, después fue filtrado con papel Whatman N°41. Este filtrado fue llevado a evaporar el alcohol a una estufa de circulación de aire a 37°C hasta obtener un extracto seco (153.45gramos). El extracto seco fue guardado en frascos de color ámbar a una temperatura de 4°C hasta su uso ⁽²¹⁾.

El rendimiento de la técnica fue de 8.6% obtenido por los cálculos descritos a continuación:

1785g de muestra vegetal fresca de *P. tripartita* → 100%

153.45g de extracto seco de *P. tripartita* → X

X =8.6%

Preparación del inóculo:

El inóculo del microorganismo fue preparado usando una solución salina estéril a la que se le fue agregando progresivamente colonias del microorganismo en el cultivo rejuvenecido, hasta obtener una suspensión equivalente a una turbidez al tubo N° 0,5 del estándar de Mc Farland equivalente a $1-5 \times 10^8$ UFC ⁽²²⁾.

Sembrado del microorganismo

Después de 15 minutos al ajuste de la turbidez del inóculo, se sumergió un hisopo estéril en la suspensión del inóculo de 0,5 de McFarland, y se retiró el exceso del inóculo rozando el hisopo por la pared interior del tubo de ensayo por encima del nivel del líquido. Luego se realizó el sembrado del inóculo sobre la superficie del agar Müller Hinton (MH) girando la placa Petri en tres direcciones. Se dejó secar la placa por 5 minutos ^(22,23).

Método de difusión de discos

El método más común en la evaluación de la actividad antimicrobiana es el ensayo Kirby – Bauer. Se prepararon discos de papel de filtro estéril con un diámetro de 6 mm, se colocó cuatro discos por placa de modo que estén a una distancia aproximada de 25 mm uno del otro ⁽²³⁾. Posteriormente las placas se incubaron a 37°C durante 24 horas.

Dilución del extracto seco de *P. tripartita* al 10% y al 20%:

Para la preparación de las concentraciones del extracto de *P. tripartita* se utilizó extracto seco y Solución Salina Fisiológica (SSF) como disolvente, según los siguientes cálculos:

Extracto de *P. tripartita* al 10%:

10g extracto seco *P. tripartita* → aforado a 100ml de SSF.

1g extracto seco *P. tripartita* → X

X = 1g extracto seco *P. tripartita* aforado a 10ml de SSF.

De esta solución se tomó 100 μ l para ser colocados sobre los discos de papel, por lo tanto, la cantidad de extracto de *P. tripartita* fue de 10 μ g de extracto seco por disco.

Extracto de *P. tripartita* al 20%:

20g extracto seco *P. tripartita* → aforado a 100ml de SSF.

2g extracto seco *P. tripartita* → X

X = 2g extracto seco *P. tripartita* aforado a 10ml de SSF.

De esta solución se tomó 100 μ l para ser colocados sobre los discos de papel, por lo tanto, la cantidad de extracto de *P. tripartita* fue de 20 μ g de extracto seco por disco.

Medición de los halos de inhibición:

Se midió la zona de inhibición de cada disco contra una superficie bajo luz reflejada. Se midió el diámetro de la zona incluyendo los 6mm del disco, con un vernier sobre el respaldo de la placa Petri. Una lectura de 6mm indica que no hay zona de inhibición ^(22,23).

4.5 Plan de Análisis:

Los resultados fueron organizados en una base de datos de Microsoft Excel ®, luego se utilizó la estadística inferencial probando primero la normalidad de los datos (Prueba Shapiro Wilks) y posteriormente se realizaron las pruebas de análisis de varianza ANOVA y las pruebas de comparación de medias T-Student utilizando el programa estadístico SPSS v 20.0 ⁽²⁴⁾.

4.6 Matriz de consistencia:

| Título de la investigación | Formulación del problema | Objetivos | Hipótesis | Tipo de investigación y diseño | Variable | Definición Operacional | Indicadores y escala de medición | Plan de análisis |
|--|---|---|--|---|---|---|---|--------------------------------------|
| EFFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRIO DEL EXTRACTO HIDROALCOHOLICO DE HOJAS DE <i>Passiflora tripartita var. mollisima</i> (TUMBO SERRANO) SOBRE <i>Staphylococcus aureus</i> . | ¿El extracto hidroalcohólico de hojas de <i>Passiflora tripartita var mollisima</i> (Tumbo Serrano) presentará efecto antibacteriano sobre <i>Staphylococcus aureus</i> ? | <p>OBJETIVOS GENERALES: Evaluar el efecto antibacteriano in vitro del extracto hidroalcohólico de hojas de pasiflora tripartita var. Mollisima (tumbo serrano) sobre <i>Staphylococcus aureus</i>.</p> <p>OBJETIVOS ESPECIFICOS: Demostrar el efecto antibacteriano in vitro a diferentes concentraciones del extracto hidroalcohólico de hojas de <i>pasiflora tripartita var. Mollisima</i> (tumbo serrano) sobre <i>Staphylococcus aureus</i>. Comparar el efecto antibacteriano in vitro a concentraciones de 10% y 20 % del extracto hidroalcohólico de hojas de pasiflora tripartita var. Mollisima (tumbo serrano) sobre <i>Staphylococcus aureus</i>.</p> | <p>H 0: El extracto hidroalcohólico de hojas de pasiflora tripartita var. Mollisima (tumbo serrano) no posee efecto antibacteriano in vitro sobre <i>Staphylococcus aureus</i>.</p> <p>H 1: El extracto hidroalcohólico de hojas de pasiflora tripartita var. Mollisima (tumbo serrano) posee efecto antibacteriano in vitro sobre <i>Staphylococcus aureus</i>.</p> | <p>Tipo: Experimental Transversal de enfoque cuantitativo.</p> | <p>Variable Independiente</p> <p>Variable dependiente</p> | <p>Extracto hidroalcohólico de hojas de Passiflora tripartita var mollisima (Tumbo Serrano): Se usaron dos concentraciones.</p> <p>Efecto antibacteriano: Se determinó mediante la medición de halos de inhibición.</p> | <p>Extracto hidroalcohólico de hojas <i>Passiflora tripartita var Mollisima</i> (Tumbo Serrano) al 10 % y 20 % p/v Cualitativa nominal</p> <p>Diámetros de Halo Inhibitorio (mm) Cuantitativa de razón.</p> | Prueba estadística ANOVA, T-STUDENT. |

4.7 Principios Éticos

Para la ejecución del presente trabajo de investigación se consideró los aspectos éticos que rigen de todas las investigaciones realizadas dentro de la Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote ⁽²⁵⁾.

Los requerimientos de toda investigación son: Describir información adquirida a través de la aplicación de las placas petri, por lo cual, mediante el sembrado, me permitirá obtener el conocimiento requerido sobre el efecto antibacteriano in vitro de pasiflora tripartita var. mollissima (tumbo serrano) frente a cepas de staphylococcus aureus, para tener un alcance que permita la consistencia de la investigación.

Protección de personas: la persona a realizar la investigación debe estar previamente capacitada, para lo cual se necesita cierto grado de protección de la misma, así como medir el riesgo y la probabilidad de obtener un beneficio favorable.

La información expuesta en este proyecto, es debido a la revisión de distintas fuentes de donde se recaudó toda información, conteniendo las respectivas citas bibliográficas de acuerdo con el formato vancouver, establecido por el área de investigación de la Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote.

Esta investigación será utilizada solo para fines académicos.

V. RESULTADOS

5.1 Resultados

TABLA 1

Efecto antibacteriano in vitro a concentraciones de 10% y 20% del extracto hidroalcohólico de hojas de *Passiflora Tripartita* Var. *Mollisima* (TUMBO SERRANO) sobre *Staphylococcus aureus*, expresados en mm de diámetro de inhibición.

| Grupos de Investigación | Promedio del diámetro de los halos de Inhibición (mm) X±DS | Significancia P ANOVA |
|---|---|------------------------------|
| Grupo control negativo (Solución Salina Fisiológica) | 6.0 ± 0.0 | 0.000* |
| Grupo estándar farmacológico (Azitromicina 25mg/disco) | 29.57 ± 2.3 | |
| Extracto Hidroalcohólico <i>Passiflora tripartita</i> var. <i>mollisima</i> 10% | 15.95 ± 0.99 | |
| Extracto Hidroalcohólico. <i>Passiflora tripartita</i> var. <i>mollisima</i> 20 % | 19.45 ± 1.06 | |

* (P<0.05); PRUEBA ANOVA

Leyenda:

X: Promedio

DS: Desviación Estándar

TABLA 2

Efecto antibacteriano in vitro del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Passiflora Tripartita* Var. *Mollissima* (TUMBO SERRANO) sobre *Staphylococcus aureus* a diferentes concentraciones frente al control estándar.

| Grupos de investigación | Tamaño de los halos de inhibición en mm. de los 2 grupos comparados | | Significancia (Valor P) |
|---|---|--------------|-------------------------|
| | X ± DS | | |
| Grupo estándar farmacológico (Azitromicina) vs Extracto Hidroalcohólico <i>P. tripartita</i> al 10% | 29.57 ± 2.3 | 15.95 ± 0.99 | 0.000* |
| Grupo estándar farmacológico (Azitromicina) vs Extracto Hidroalcohólico <i>P. tripartita</i> al 20% | 29.57 ± 2.3 | 19.45 ± 1.06 | 0.000* |
| Extracto Hidroalcohólico <i>P. tripartita</i> al 10% vs E.H <i>P. tripartita</i> al 20% | 15.95 ± 0.99 | 19.45 ± 1.06 | 0.014* |

*(P<0.05); PRUEBA T-STUDENT

Leyenda:

X: Promedio

DS: Desviación Estándar

E.H: Extracto Hidroalcohólico

5.2 ANÁLISIS DE RESULTADOS:

La presente tesis de investigación se buscó determinar si el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Passiflora Tripartita* var. *Mollissima*, ejerce un efecto inhibitorio sobre el crecimiento de *Staphylococcus aureus*.

Al realizar la medición de los halos de inhibición bacteriana se encontró:

En la Tabla 01 se aprecia los promedios y desviación estándar de cada uno de los grupos de estudio, también se muestra la significancia entre los grupos utilizando la prueba ANOVA cuyo valor $P=0.000$ (<0.05) indicando que existe una diferencia estadísticamente significativa entre los grupos, y confirma la hipótesis alternativa. En el grupo blanco que contenía solamente solvente (solución salina fisiológica) no hubo inhibición del crecimiento bacteriano, ya que los 6mm de diámetro medido corresponden al diámetro del disco; la utilidad se fundamenta en la necesidad de tener un control de calidad microbiológico de los materiales, del agar y del solvente utilizado para la dilución del extracto de las hojas de *P. tripartita*.

Con respecto al grupo Estándar farmacológico el medicamento utilizado fue la azitromicina, con una concentración de 25mg/disco; aquí se observa que el diámetro de inhibición fue de 29.57 ± 2.3 mm.; valor considerado como esperado ya que, según la información del Instituto Nacional de Salud Azitromicina, en las pruebas de sensibilidad frente a *S. aureus*; debe presentar un valor mayor a 21mm (23).

La azitromicina es un antibiótico macrólido de amplio espectro con una vida media prolongada y un alto grado de penetración tisular 3. Inicialmente fue aprobado por la FDA en 1991. Se usa principalmente para el tratamiento de infecciones respiratorias, entéricas y genitourinarias y puede usarse en lugar de otros macrólidos

para algunas infecciones de transmisión sexual y entéricas. Está relacionado estructuralmente con la eritromicina (26).

Para replicarse, las bacterias requieren un proceso específico de síntesis de proteínas, habilitado por proteínas ribosomales. La azitromicina se une al ARNr 23S de la subunidad ribosómica 50S bacteriana. Detiene la síntesis de proteínas bacterianas al inhibir el paso de transpeptidación / translocación de la síntesis de proteínas e inhibiendo el ensamblaje de la subunidad ribosómica 50S; esto da como resultado el control de diversas infecciones bacterianas; la fuerte afinidad de los macrólidos, incluida la azitromicina, por los ribosomas bacterianos, es consistente con sus actividades antibacterianas de amplio espectro (27).

En el caso de los grupos experimentales del extracto hidroalcohólico de hojas de *Passiflora tripartita* Var. *Mollissima* tanto al 10% como al 20% presentaron efecto antibacteriano esto puede explicarse por lo reportado por Gil et al quienes identifican la presencia de compuestos fenólicos, taninos, leucoantocianidinas, cardenólidos y esteroides en los extractos etanólicos de *P. tripartita*, estos compuestos están asociados con la inhibición del crecimiento bacteriano, efecto bactericida y daño citológico para microorganismos (28).

También se observa que los halos de inhibición con mayor diámetro fueron los del extracto de *Passiflora tripartita* Var. *Mollissima* al 20% con un valor de 19.45 ± 1.06 mm de longitud, aunque este valor es menor que el obtenido por el medicamento azitromicina, esta diferencia estaría relacionada a que el extracto está

formado por un conjunto de fitoconstituyentes en pequeñas cantidades, que además pueden ejercer interacciones entre ellos, a diferencia del fármaco azitromicina que es una molécula única, y la dosis utilizada corresponde únicamente al medicamento.

En la Tabla 02 se muestran las comparaciones de los promedios y la significancia comparadas con la prueba T – Student en donde todos los grupos comparativos muestran significancias $p < 0.05$, es decir que en todas las comparaciones realizadas existen diferencias estadísticamente significativas, es necesario resaltar que en la comparación del estándar Azitromicina frente a los extractos de Passiflora en los 2 casos el medicamento mostró un efecto significativamente superior, lo mismo ocurre entre el extracto de P. tripartita al 20% que muestra un efecto mayor que el extracto al 10% esto podría explicarse por un efecto relacionado a la dosis de los metabolitos bioactivos, lo que significaría que aislando dichos metabolitos y aumentando sus concentraciones se podría obtener resultados más prometedores.

VI. CONCLUSIONES

6.1 Conclusiones

- El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Passiflora tripartita* var. *mollissima* (tumbo serrano) presentan efecto antibacteriano in vitro sobre *Staphylococcus aureus* tanto al 10% como al 20%.
- El efecto antibacteriano in vitro del extracto hidroalcohólico de hojas de *Passiflora tripartita* var. *mollissima* (Tumbo Serrano) sobre *Staphylococcus aureus* al 20% fue superior que el extracto al 10%.
- El efecto antibacteriano in vitro del extracto hidroalcohólico de hojas de *Passiflora tripartita* var. *mollissima* (Tumbo Serrano) al 10% y 20% frente a *Staphylococcus aureus* fueron inferiores al presentado por el fármaco de referencia (Azitromicina).

ASPECTOS COMPLEMENTARIOS

Recomendaciones

- ✓ Se sugiere continuar con investigaciones a fin de fortalecer los resultados, y con altas concentraciones del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Passiflora tripartita* Var. *Mollissima* (tumbo serrano), debido a los beneficios que tiene esta propiedad en los seres humanos.
- ✓ A profesionales de la carrera Químico Farmacéutico, que sigan realizando estudios similares para obtener beneficios que puedan contribuir en los estudios siguientes, asimismo propongan más estudios de la misma u otros frutos o plantas medicinales.
- ✓ Realizar más proyectos de investigación que busquen el descubrir nuevas especies naturales con efecto antibacterianos, antiviral.
- ✓ Realizar estudios in vitro utilizando el extracto hidroalcohólico de pasiflora tripartita var mollissima (tumbo serrano) frente a *Staphylococcus aureus* en infecciones experimentales.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Castañeda Díaz M, Requelme, Portocarrero F, Poma-Ortiz. Infecciones intrahospitalarias: Un círculo vicioso. Rev Med Hered. [Internet]. 2011 [Citado 11 octubre 2020].22 (4): 202-203. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1018130X2011000400012&lng=es&nrm=iso>. ISSN 1018-130X.
2. Rojano B, Zapata K, Cortes F. Capacidad atrapadora de radicales libres de *Passiflora mollissima* (Kunth) L. H. Bailey (curuba). Rev cubana Plant Med. [Internet]. 2012 [Citado 11 octubre 2020] 17(4): 408-419. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S102847962012000400012&lng=es&nrm=iso>. ISSN 1028-4796.
3. Cabrera S, Sandoval A, Forero F. Potencial antioxidante y antimicrobiano de los extractos acuosos e hidroalcohólicos de *Passiflora ligularis* (Granadilla). Acta Agronómica., [Internet]. 2014 [Citado 11 octubre 2020].
4. Farfán L, Benítez S, Hoyos L. Sensibilidad de bacterias procedentes de pasifloras a antibióticos y productos cúpricos. Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas. [Internet]. 2014 [Citado 11 octubre 2020]. 8(1):20-33. Disponible en: http://revistas.uptc.edu.co/index.php/ciencias_hortícolas/article/view/2797>Fecha de acceso: 07 August 2018 doi: <https://doi.org/10.17584/rcch.2014v8i1.2797>

5. Bernal R, Rodríguez I, Salazar M. Efecto del extracto hidroalcohólico de *Punica granatum* sobre la viabilidad de *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa* “in vitro”. Revista REBIOLEST. [Internet]. 2014 [Citado 11 octubre 2020] 2(1): 1-9 Disponible en: <http://revistas.unitru.edu.pe/index.php/ECCBB/article/view/639/587>.
6. Chaparro D, Maldonado M, Urango L, et al. Propiedades quimiopreventivas de *Passiflora mollissima* (Kunth) L. H. Bailey (curuba larga) contra cáncer colorrectal. Rev cubana Plant Med. [Internet]. 2015 [Citado 11 octubre 2020] Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S102847962015000100006&lng=es&nrm=iso. ISSN 1028-4796.
7. Canchanya Ancelmo, Zoraida, and Maryestela Diestra Moreno. "Actividad antibacteriana de un jarabe elaborado con extracto hidroalcohólico de las hojas de *Passiflora tripartita* (Tumbo) Frente a cepas *Staphylococcus aureus* ATCC. [Internet]. 2020 [Citado 10 octubre 2020]. 14(2): 112-24 Disponible en: <http://repositorio.uigv.edu.pe/handle/20.500.11818/5043>
8. Dos Santos, R. M., Costa, G., Cerávolo, I. P., & Dias-Souza, M. V. Potencial antibiofilm de extractos de pulpa de *Psidium guajava* y *Passiflora edulis* contra *Staphylococcus aureus*, citotoxicidad e interferencia en la actividad de fármacos antimicrobianos. Revista futura de ciencias farmacéuticas [Internet]. 2020 [Citado 10 octubre 2020] Disponible en: <https://fjps.springeropen.com/articles/10.1186/s43094-020-00056-8>

9. Nugraha, S. E., Achmad, S., & Sitompul, E. Actividad antibacteriana del extracto de etanol de cáscara de maracuyá púrpura (*Passiflora edulis* Sims) en *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. *Revista indonesia de investigación clínica y farmacéutica* [Internet]. 2018 [Citado 10 octubre 2020] Disponible en: <https://talenta.usu.ac.id/idjpcr/article/view/606>
10. Siebra, A. L. A., Oliveira, L. R., Martins, A. O., Siebra, D. C., Albuquerque, R. S., Lemos, I. C. S., Coutinho, H. D. Potenciación de la actividad antibiótica por *Passiflora cincinnata* Mast. frente de las cepas *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. *Revista saudita de ciencias biológicas*. [Internet]. 2018 [Citado 10 octubre 2020]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1319562X16000218#>
11. Mohite, S., Shah, R., & Patel, N. Antimicrobial activity of leaves extracts of *Passiflora foetida*. *Asian Journal of Research in Pharmaceutical Science*. [Internet]. 2018. [Citado 10 octubre 2020]. 8(1), 17-20. Disponible en: <http://www.indianjournals.com/ijor.aspx?target=ijor:ajrps&volume=8&issue=1&article=004>
12. Aernan, P. T., Aondofa, T. J., & Angbian, T. T. In-Vitro Antibacterial Activity of Leaf and Stem Extract of *Passiflora edulis* (Passion Fruit) Planted in Federal University of Agriculture Makurdi, Central Nigeria. *IJSR*. [Internet]. 2016. [Citado 10 octubre 2020]. 5(9), 499-503. Disponible en: https://www.researchgate.net/profile/Aernan_Paulyn/publication/307984022_invitro_antibacterial_activity_of_leaf_and_stem_extract_of_Passiflora_edulis_Passion_fruit_p

lanted_in_Federal_University_of_Agriculture_Makurdi_Central_Nigeria/links/57d61da308ae5f03b4932b22.pdf

13. Olascuaga K., Rubio S., Valdiviezo-Campos, J. E., & Blanco-Olano, C. Desmodium molliculum (Kunth) DC (Fabaceae); Perfil etnobotánico, fitoquímico y farmacológico de una planta andina peruana. *Ethnobotany Research and Applications*. [Internet] 2020 [citado 04 de octubre 2020] Disponible en: <http://ethnobotanyjournal.org/index.php/era/article/view/1811>.
14. Maritza, Cumandá, Charco Hidalgo. “EVALUACIÓN DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE Passiflora tripartita. Y PRE FORMULACIÓN DE JARABE. [Internet] 2017 [citado 04 de octubre 2020]. Disponible en: <http://dspace.esoch.edu.ec/bitstream/123456789/6829/1/56T00723.pdf>.
15. Zhang X. Medicina tradicional, medicamentos esenciales y política farmacéutica OMS/Ginebra. [Internet] [citado 12 Septiembre 2020] Disponible en: https://www.who.int/topics/traditional_medicine/definitions/es/
16. Directrices de la OMS. Buenas prácticas agrícolas y de recolección de plantas medicinales [Internet]. Ginebra: Organización Mundial de la Salud. [Internet] 2003. [citado 30 septiembre 2020]. Disponible en: <http://bvs.minsa.gob.pe/local%20MINSAs/1391.pdf>

17. Gil M. Staphylococcus aureus: Microbiología y aspectos moleculares de la resistencia a meticilina. Rev Chil Infect [Internet]. 2000 [citado 11 octubre 2020]; 17 (2): 145-152. Disponible en: <https://scielo.conicyt.cl/pdf/rci/v17n2/art10.pdf>
18. Reddy P, Srirama K, Dirisala V. An Update on Clinical Burden, Diagnostic Tools, and Therapeutic Options of *Staphylococcus aureus*. *Infectious Diseases* [Internet]. 2018 [citado 11 octubre 2020].
19. Kahanov L, Kim Y, Eberman L, et al. *Staphylococcus aureus* and CommunityAssociated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (CA-MRSA) in and Around Therapeutic Whirlpools in College Athletic Training Rooms. *Journal of Athletic Training* [Internet]. 2015. [citado 30 setiembre 2020].
20. Brown A, Leech J, Rogers T, et al. Staphylococcus aureus Colonization: Modulation of Host Immune Response and Impact on Human Vaccine Design. *Frontiers in Immunology* [Internet]. 2013; [citado 30 Setiembre 2020].
21. Herrera Tapia, Geiser, and Lizeth Milagros Rojas Aguedo. "Efecto hipoglucemiante del extracto hidroalcohólico de las hojas de passiflora tripartita “tumbo” en ratas diabéticas inducidas por aloxano. [Internet].2020. Disponible en: <http://191.98.185.106/bitstream/handle/UMA/280/TESIS%20FINAL.pdf?sequence=1&isAllowed>

22. Canton E., Martin E., Espinel A. Métodos estandarizados por el CLSI para el estudio de la sensibilidad a los antifúngicos (documentos M27-A3, M38-A y M44-A). Revista Iberoamericana de Micología - ISBN: 978-84-611-8776-8. 2007. [Internet]. [Citado 10 octubre 2020]. 9(1), 17-20. Disponible en: <http://www.guia.reviberoammicol.com/Capitulo15.pdf>
23. Instituto Nacional de la Salud. Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión. Perú. [Internet]. 2002. [citado 10 octubre 2020]. 3(1), 17-20. Disponible en: <http://www.ins.gob.pe/insvirtual/images/otrpubs/pdf/manual%20sensibilidad%202.pdf>
24. Lorenzo, Jorge. "Estadística Básica: introducción a la prueba ty análisis de la varianza." (2019). [citado 10 octubre 2020]. Disponible en: <https://ansenuza.unc.edu.ar/comunidades/bitstream/handle/11086.1/1348/Prueba%20t%20y%20ANOVA.pdf?sequence=1>
25. Universidad católica los Ángeles de Chimbote. Código de Ética para la investigación versión 001 [Internet]. 2016. [Citado 10 octubre 2020]. Disponible en: <https://www.uladech.edu.pe/images/stories/universidad/documentos/2016/codigo-de-etica-para-la-investigacion-v001.pdf>
26. Parnham, M. J., Haber, V. E., Giamarellos-Bourboulis, E. J., Perletti, G., Verleden, G. M., & Vos, R. Azithromycin: mechanisms of action and their relevance for clinical

applications. *Pharmacology & therapeutics*. [Internet]. 2014. [Citado 10 octubre 2020]. 143(2), 225-245. Disponible en:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0163725814000552>

27. Jelić, Dubravko, and Roberto Antolović. "From erythromycin to azithromycin and new potential ribosome-binding antimicrobials." *Antibiotics*. [Internet]. 2016. [Citado 10 octubre 2020] Disponible en:<https://www.mdpi.com/2079-6382/5/3/29>

28. Gil Velásquez, Jenner Omar. "Efecto depresor del extracto etanólico de hojas de *Passiflora tripartita* en *Mus musculus* var. *albinus*, mediante el test de Irwin". [Internet]. 2018. [Citado 10 octubre 2020]. Disponible en:

<http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/11043>

ANEXOS

Figura 01:

HERBARIUM TRUXILLENSE (HUT)

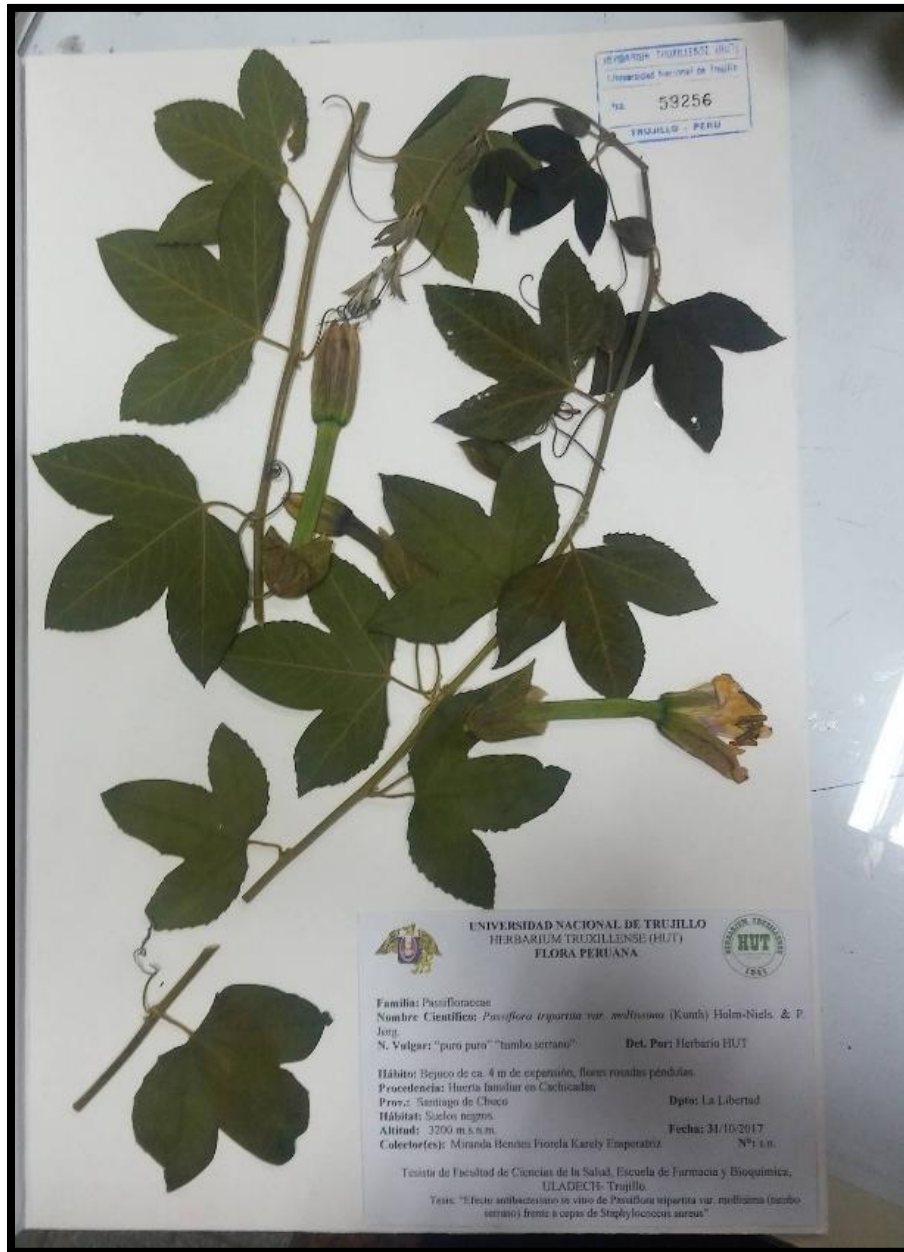


Figura02: HERBARIUM TRUXILLENSE (HUT)

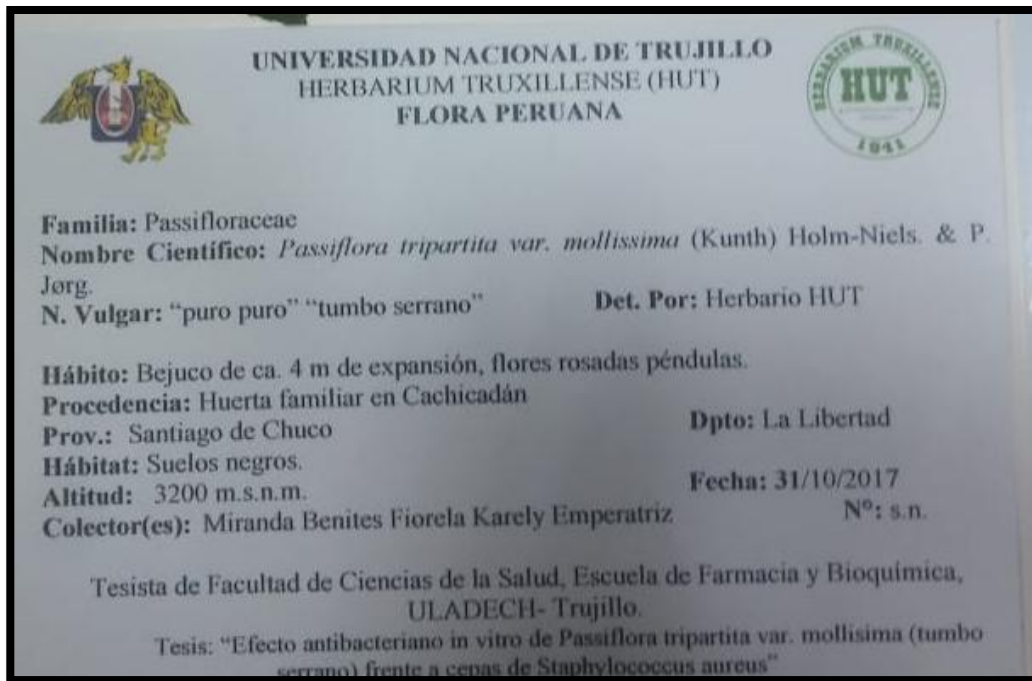


Figura 03:

Realizando la molienda de las hojas de
Tripartita var. *Mollissima* (Tumbo Serrano)
Deshidratada.



Laboratorio de microbiología de la Universidad Los Ángeles de Chimbote- Uladech
Trujillo

Figura 04: La trituración de las hojas *Passiflora Tripartita* var. *Mollisima* (*Tumbo serrano*)



Laboratorio de microbiología de la Universidad Los Ángeles de Chimbote- Uladech
Trujillo

Figura 05:

La extracción del extracto hidroalcohólico de las
hojas *Passiflora Tripartita* var. *Mollisima*
(*Tumbo serrano*)



Laboratorio de microbiología de la Universidad Los Ángeles de Chimbote- Uladech
Trujillo

Figura06:

Realizando el procedimiento del antibiograma



Laboratorio de microbiología de la Universidad Los Ángeles de Chimbote- Uladech Trujillo

Figura07:

Incubación en la estufa de cultivo.



Laboratorio de microbiología de la Universidad Los Ángeles de Chimbote- Uladech- Trujillo

Figura 08:

Antibióticos y Diámetros críticos para *Staphylococcus aureus*

Tabla 2. Antibióticos y Diámetros Críticos para *Staphylococcus spp.*

| ANTIMICROBIANO | CONTENIDO DEL DISCO | DIAMETRO EN mm | | |
|---|---------------------|----------------|-------|-----|
| | | R | I | S |
| PENICILINAS | | | | |
| Penicilina | 10 unidades | ε 28 | - | ³29 |
| Oxacilina (<i>S. Aureus</i>) | 1 µg | ε 10 | 11-12 | ³13 |
| (<i>Estafilococos coagulasa</i> negativos) | 1 µg | ε 17 | - | ³18 |
| GLICOPEPTIDOS | | | | |
| Vancomicina | 30 µg | - | - | ³15 |
| Teicoplanina | 30 µg | ε 10 | 11-13 | ³14 |
| AMINOGLUCOSIDOS | | | | |
| Gentamicina | 10 µg | ε 12 | 13-14 | ³15 |
| FLUOROQUINOLONAS | | | | |
| Norfloxacin | 10 µg | ε 12 | 13-16 | ³17 |
| Ciprofloxacina | 5 µg | ε 15 | 16-20 | ³21 |
| TETRACICLINA | | | | |
| Tetraciclina | 30 µg | ε 14 | 15-18 | ³19 |
| MACROLIDOS | | | | |
| Eritromicina | 15 µg | ε13 | 14-22 | ³23 |
| LINCOSAMIDAS | | | | |
| Clindamicina | 2 µg | ε 14 | 15-20 | ³21 |
| OTROS | | | | |
| Cloramfenicol | 30 µg | ε 12 | 13-17 | ³18 |
| Rifampicina | 5 µg | ε 16 | 17-19 | ³20 |
| Nitrofurantoina | 300 µg | ε 14 | 15-16 | ³17 |
| Trimetoprim/sulfametoxazol | 1.25/23.75µg | ε 10 | 11-15 | ³16 |

Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión. Perú.

Figura 09:

Protocolo de Investigación con Microorganismos



UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES
CHIMBOTE

PROTOCOLO DE INVESTIGACION RELACIONADOS CON MICROORGANISMOS
(Ciencias Médicas y de la Salud)

Título de la Investigación: EFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL EXTRACTO HIDROALCOHOLICO DE HOJAS DE *Passiflora tripartita* var. *Mollissima* (tumbo serrano) SOBRE STAFYLOCOCCUS AUREUS

Investigador Responsable: Fiorela Karely Emperatriz Miranda Benites

Yo, como investigador principal, acepto la responsabilidad de conducir este estudio y de cumplir con los principios de ética relacionados con los microorganismos.

Describa brevemente los procedimientos a los que serán expuestos los microorganismos durante su estudio:

1. Conservación en su medio adecuado
2. Procedimiento del sembrado en las placas Petri
3. Incubación

INFORMACIÓN ACERCA DE LOS MICROORGANISMOS:

ESPECIE

Nombre científico: *Staphylococcus aureus*

Nombre común:

GENERO: Hembra: Macho:

Número a utilizar:

Justifique los grupos de diseño de la investigación a utilizar:

- **Grupo Control negativo:** Dicho grupo estuvo formado por 5 placas Petri contenía Agar Müeller Hinton (25 ml) y sembradas con la bacteria *S. aureus* ATCC 25923 (1×10^8 UFC por ml) el cual se realizó como patrón el tubo 0.5 de la turbidez de Mc Farland, en estas placas se colocaron 4 discos de papel filtro (Whatman n° 41) con un diámetro de 6 mm, sobre estos discos se colocó un solvente (100 µl de solución suero fisiológico).
- **Grupo estándar farmacológico:** Dicho grupo estuvo formado por 5 placas petri contenía con Agar Müeller Hinton (25 ml) y sembradas con la bacteria *S. aureus* ATCC 25923 con una concentración de (1×10^8 UFC por ml) utilizando como patrón el tubo 0.5 de la turbidez de Mc Farland, en ello se colocó 4 discos hechos con papel filtro (Whatman n° 41) con un diámetro de 6 mm, sobre estos discos se colocará una solución de Azitromicina (25mg/disco).



UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES
CHIMBOTE

- **Grupo experimental N°1 (10%)(p/v) del extracto hidroalcohólico de hojas de Tumbo Serrano:** Dicho grupo estuvo formado por 5 placas petri contenía Agar Müller Hinton (25 ml) y sembradas con bacteria *S. aureus* ATCC 25923 con una concentración (1×10^8 UFC por ml) utilizando como patrón el tubo 0.5 de la turbidez de Mc Farland, en ellas se colocaron 4 discos hechos de papel filtro (Whatman grado 41 con un diámetro de 6 mm), sobre estos discos se colocó el extracto hidroalcohólico de hojas de *Passiflora tripartita var. Mollissima*, diluido al 10%.
- **Grupo experimental N°2 (20%) (p/v) del extracto hidroalcohólico de hojas del Tumbo Serrano:** Dicho grupo estuvo formado por 5 placas petri contenía Agar Müller Hinton (25 ml) y sembradas con bacteria *S. aureus* ATCC 25923 (1×10^8 UFC por ml) utilizando como patrón el tubo 0.5 de la turbidez de Mc Farland, en ellas se colocaron 4 discos hechos con papel filtro (Whatman grado 41 con un diámetro de 6 mm) sobre estos discos se colocó el extracto hidroalcohólico de hojas de *Passiflora tripartita var. mollissima* diluido al 20%.

PROCEDIMIENTOS:

Descripción de la Obtención de material biológico (método a utilizar, muestra a tomar, manejo de la muestra de ser el caso):

Se obtuvo en el servicio de Laboratorio del Hospital Jerusalén – La Esperanza

Bioseguridad (procedimientos para evitar impactos negativos en el ambiente, en casos de trabajos de campo de ser el caso):

Conservación en el Laboratorio de Microbiología

Firma del Investigador Principal

Fecha 19/10/2020